

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928

THÈSE

N° 109

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

André-Louis SERGENT

Ancien externe des Hôpitaux
Né le 16 janvier 1903 à Paris

LES

FACTEURS DE CROISSANCE
DES MICROBES

SUR MILIEUX ARTIFICIELS

Président : M. LEMIERRE, professeur.

PARIS

LIBRAIRIE OCTAVE DOIN

GASTON DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1928

Tous droits réservés

1111

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

André-Louis SERGENT

Ancien externe des Hôpitaux
Né le 16 janvier 1903 à Paris

LES
FACTEURS DE CROISSANCE
DES MICROBES
SUR MILIEUX ARTIFICIELS

Président : M. LEMIERRE, professeur.

PARIS

LIBRAIRIE OCTAVE DOIN
GASTON DOIN & C^{ie}, ÉDITEURS
8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1928

Tous droits réservés

I. — PROFESSEURS

	MM
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	CUNEO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECÈNE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Clinique médicale	CARNOT.
	BEZANÇON
	ACHARD.
	WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD
	DELBET.
Clinique chirurgicale	HARTMANN
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
	COUVELAIRE
Clinique d'accouchements	BRINDEAU.
	JEANNIN
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Professeur sans chaire	BRANCA.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ABRAMI . . . Pathologie médicale.
 ALAJOUANINE. Neurologie et psychiatrie.
 AUBERTIN . . Pathologie médicale.
 BASSET . . . Pathologie chirurgicale.
 BAUDOUIN. . Pathologie médicale
 BINET Physiologie.
 BLANCHETIÈRE Chimie biologique.
 BROCCO . . . Pathologie chirurgicale
 BRULÉ. . . . Pathologie médicale.
 CADENAT . . Pathologie chirurgicale.
 CHABROL . . Pathologie médicale.
 CHIRAY . . . Pathologie médicale.
 CLERC. . . . Pathologie médicale
 DEBRÉ Hygiène.
 DOGNON. . . . Physique.
 DONZELOT . . Pathologie médicale.
 DUVOIR . . . Médecine légale.
 ÉCALLE Obstétrique.
 FIESSINGER. Pathologie médicale.
 GARNIER . . . Pathologie expérimentale
 GATELLIER . Pathologie chirurgicale.
 GIROUD . . . Histologie.
 HARVIER. . . Pathologie médicale.
 HEITZ-BOYER Urologie.
 HOVELACQUE . Anatomie.

MM

HUTINEL. . . Pathologie médicale.
 JOYEUX . . . Parasitologie.
 LABBÉ (Henri) Chimie biologique.
 LARDENNOIS Pathologie chirurgicale
 LEMAITRE. . Oto-rhino-laryngologie
 LEROUX. . . Anatomie pathologique
 LÉVY-SOLAL. Obstétrique.
 LHERMITTE . Pathologie mentale.
 LIAN. Pathologie médicale.
 MATHIEU. . . Pathologie chirurgicale
 MERCIER (F.) Pharmacologie
 METZGER . . Obstétrique.
 MONDOR. . . Pathologie chirurgicale
 MOURE. . . . Pathologie chirurgicale
 MULON. . . . Histologie.
 OBERLING . Anatomie pathologique.
 PHILIBERT. . Bactériologie.
 QUÉNU. . . . Pathologie chirurgicale
 RICHET Fils. Physiologie.
 SÉZARY . . . Dermatologie et syphiligraphie.
 VALLERY-RADOT
 (Pasteur) . . Pathologie médicale.
 VAUDESCAL. Obstétrique
 VELTER. . . . Ophtalmologie
 VERNE Histologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

BUSQUET. . . . Pharmacologie.
 GUENIOT . . . Obstétrique.
 LEQUEUX . . . Obstétrique.
 NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.

MM.

RETTERRER. . Histologie.
 ZIMMERN. . . Physique.
 N Pathologie médicale

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.

ALGLAVE . . Clinique chirurgicale.
 AUVRAY . . Clinique chirurgicale.
 CHEVASSU . . Clinique chirurgicale.
 LAIGNEL-LAVASTINE . Clinique médicale.
 LE LORIER . . Clinique obstétricale.

MM,

LERI Clinique médicale.
 MOCQUOT . . Clinique chirurgicale
 PROUST . . . Clinique chirurgicale.
 SCHWARTZ . . Clinique chirurgicale

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé. . . .	{	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail les mutilés de guerre et les infirmes adultes
FREY.		Stomatologie.
CHAILLEY-BERT.		Education physique.
LEDoux-LEBARD		Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions, émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. le PROFESSEUR A. LEMIERRE

*Hommage de bien vive gratitude et
de respectueuse affection.*

A MON JURY

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ ET DES HÔPITAUX DE PARIS

M. LE PROFESSEUR A. LEMIERRE.

M. LE PROFESSEUR E. BRUMPT.

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ R. DEBRÉ.

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PASTEUR VALLERY-RADOT.

M. LE DOCTEUR P. ARMAND-DELILLE.

A MES MAITRES DE L'INSTITUT PASTEUR

A M. LE DOCTEUR RENÉ LEGROUX

*Hommage de profonde reconnais-
sance et de bien affectueux attache-
ment.*

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ
ET DES HOPITAUX D'ALGER.

INTRODUCTION

PASTEUR, dans ses expériences sur les fermentations et les générations dites spontanées, établit qu'une trace pour ainsi dire impondérable de levure peut donner une culture dans un milieu chimiquement défini composé de sucre pur, de tartrate d'ammoniaque et de cendres de levure. Il ajoute qu'une fermentation *très sensiblement plus active* s'établit, si, au lieu d'ammoniaque pour aliment azoté, on se sert d'un suc de fruit, comme le jus de raisin ou le jus de betteraves (1).

C'est ainsi que, dès 1858, était posée pour la première fois, — et dans son entier —, la question des facteurs favorisant la culture des microbes.

On peut définir actuellement ces facteurs favorisants (2) : des éléments de nature inconnue, tirés de substances organiques, capables, à très petites doses, de rendre possible ou de stimuler puissamment la culture des microbes sur les milieux artificiels. Les facteurs de croissance ne sont pas, eux-mêmes, des aliments ; ils ne font qu'activer l'assimilation, par les microbes, des aliments proprement dits.

Cette définition n'a pu être proposée que tout récemment. Les notions sur lesquelles elle repose sont de fraîche date. Au moment où PASTEUR signalait, en passant, la valeur activante de parcelles de substances organiques sur la culture de la levure en milieu mi-

1. PASTEUR, *Œuvres*, t. II, p. 95. Masson, Edit.

PASTEUR a d'ailleurs vu que l'action de ces sucs de plantes est spécifique. C'est ainsi que le jus d'oignon, acide comme le jus de raisin, est pourtant défavorable à la culture de la levure de bière, alors qu'il est favorable à la culture du ferment lactique (*Œuvres*, t. II, p. 12. *V. infra*, 2^e partie, chapitre premier).

2. Désignées aussi sous le nom de facteurs accessoires de croissance ou, plus simplement, facteurs de croissance.

néral, personne ne fut frappé de ce trait de lumière jeté sur les phénomènes de la nutrition des microbes.

Sans vue systématique de la question, et, semble-t-il, sans y prendre garde, on constatait, à mesure que la bactériologie poursuivait ses progrès, que certaines bactéries « poussaient » bien sur les milieux de culture les plus simples : l'eau de levure, l'urine, voire sur des milieux minéraux purs, que d'autres bactéries étaient plus difficiles à élever ou ne s'habituèrent qu'à la longue à la vie sur des milieux artificiels, que quelques-unes enfin restaient réfractaires à toute tentative de domestication sur ces milieux de culture. Des succès partiels récompensaient toutefois de temps à autre les efforts des chercheurs : par exemple, PASTEUR obtient le premier de belles cultures du Bacille du choléra des poules en substituant comme milieu nutritif la macération de muscle de poule à l'urine et aux autres milieux employés avant lui. Autre exemple : l'addition d'un peu de sang aux milieux ordinaires permit la culture de tout un groupe de microbes : les bactéries dites hémophiles. Le sang apporte à ces bactéries un facteur activant analogue à celui que le suc de fruits apportait à la levure de PASTEUR.

On est ainsi arrivé, empiriquement, à distinguer trois classes de microbes :

Une première catégorie de microbes, qui comprend tous les saprophytes et un certain nombre de pathogènes, comme le bacille typhoïdique par exemple, donne des cultures sur des milieux minéraux chimiquement définis ou sur des milieux d'origine organique simples, tels que la macération ou la décoction de substances animales ou végétales ou de corps microbiens. L'addition de facteurs favorisants rend simplement les cultures plus riches.

Une deuxième catégorie comprend des microbes pathogènes qui ne peuvent s'acclimater sur des milieux artificiels que si ceux-ci sont additionnés, pour la culture primaire au moins, d'un facteur activant. Par exemple : le méningocoque, le gonocoque, le bacille de Bordet. Après un nombre variable de repiquages en milieux additionnés de facteurs de croissance, ces microbes peuvent pousser sur des milieux ordinaires qui en sont dépourvus.

Une, troisième catégorie comprend des microbes qui ne cessent pas d'avoir besoin de facteurs de croissance pour pousser sur les milieux artificiels et qui ne s'acclimatent jamais aux milieux qui en sont dépourvus. Tels sont, jusqu'à présent, le bacille de Pfeiffer, le bacille de Ducrey, certains protozoaires comme les *Leishmania*. Les progrès de la technique font passer parfois des microbes de cette catégorie dans la précédente.

On s'avisa un jour que ces faits, bien connus de tous les bactériologues, présentaient une certaine analogie avec des phénomènes relevant de la physiologie des animaux supérieurs, dont l'étude était poursuivie avec ardeur dans tous les pays depuis le début du ^{xx}^e siècle et avait abouti à la notion des vitamines. On ne tarda pas à rapprocher les deux ordres de phénomène, et à parler de vitamines pour les microbes comme on parlait de vitamines pour les animaux.

Cette assimilation est cependant discutée. Un grand nombre de savants, tout en reconnaissant des analogies entre les facteurs de croissance et d'équilibre des animaux supérieurs — les véritables vitamines — et les facteurs favorisant la culture des microbes, se refusent à reconnaître leur identité.

Nous essaierons, dans ce travail, de résumer, selon un classement aussi logique que possible, les faits acquis sur les facteurs stimulant la culture des microbes et d'en dégager des notions générales. Les chercheurs ont surtout étudié jusqu'à présent les facteurs de la culture des microbes dans les tissus normaux des animaux et des plantes. Il était intéressant d'étudier les modifications que pourraient subir ces facteurs dans les organismes malades. On sait tout le profit que la biologie tire de la physiologie, pathologique. Sur les conseils de notre maître M. le Professeur LEMIERRE, nous avons comparé les facteurs de croissance des microbes, trouvés dans le sang et dans les humeurs des malades, aux facteurs existant chez les sujets sains. Au cours de notre exposé nous rapporterons les recherches que nous avons poursuivies à ce sujet dans le laboratoire du Dr LEGROUX à l'Institut Pasteur.

PREMIÈRE PARTIE

*Facteurs de croissance pour les animaux
et les végétaux supérieurs.*

CHAPITRE PREMIER

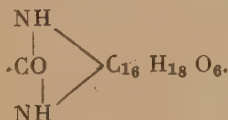
Facteurs de croissance pour les animaux supérieurs.

VITAMINES

La composition chimique de l'organisme des vertébrés supérieurs a été établie au XIX^e siècle : de l'eau, des sels minéraux, des corps azotés, des hydrocarbonés, et des graisses. Il paraissait logique et l'on crut longtemps que le problème de l'alimentation consiste à fournir à l'organisme, en quantité suffisante, ces mêmes substances. Mais on s'aperçut, à la fin du siècle dernier, que la ration alimentaire doit obligatoirement comprendre, en plus des substances minérales, quaternaires et ternaires qui en forment la portion proprement nutritive, destinée à être incorporée par l'organisme, des traces parfois infinitésimales de produits dont la nature chimique est inconnue, qui ne servent pas d'aliments, mais de stimulants de l'assimilation. Ces produits, pour lesquels l'usage a consacré l'appellation inadéquate de vitamines, proposée par C. FUNK (1) en 1912, offrent le trait particulier d'être caractérisées surtout par leurs actions : on ne connaît pas leur formule chimique (2), elles agissent à si faible dose qu'elles sont quasi impondérables ;

1. En raison de l'hypothèse que ces substances avaient des rapports avec les acides aminés.

2. FUNK a proposé pour la vitamine B la formule :



on ne les connaît que par les troubles de la nutrition que leur carence entraîne dans l'organisme des animaux supérieurs.

Ces troubles sont si marqués qu'ils ont permis de tracer le tableau clinique de plusieurs maladies de carence, ou avitaminoses. On a même pu reconnaître des avitaminoses dans les maladies des longues navigations décrites par les chroniqueurs des Croisades et par les premiers marins allant outre-mer. La maladie dont parle JOINVILLE au siège de Damiette, celle qui frappa les équipages de VASCO DE GAMA voguant vers les Indes ou de JACQUES CARTIER faisant voile pour le Canada, est le scorbut. Elle est due à la consommation d'aliments de conserve salés ou fumés. Elle est rapidement guérie par l'ingestion de fruits ou de légumes frais.

C'est également une avitaminose qui donne le béribéri, cette maladie d'Extrême-Orient qui sévit chez les mangeurs de riz, d'autant plus que le riz est mieux décortiqué; en effet les facteurs favorisant la nutrition sont contenus dans le son du riz.

L'étude expérimentale des avitaminoses, à l'aide des régimes artificiels, permet de vérifier et d'étendre les données de l'observation. On admet à l'heure actuelle l'existence de plusieurs vitamines dont la présence est nécessaire dans l'alimentation pour assurer soit le développement des jeunes, soit le maintien de l'équilibre sanitaire des adultes.

Leur définition commune est la suivante : Substances indispensables à la nutrition, de nature inconnue, qui ne paraissent appartenir à aucune des grandes classes d'aliments, existant en petites quantités dans certaines matières nutritives, ne pouvant pas être élaborées par synthèse par les animaux supérieurs, détruites par les hautes températures.

On distingue deux groupes de vitamines :

1° *Vitamines liposolubles*. — Ces principes paraissent jouer un rôle essentiel dans les phénomènes assurant le *développement*, l'*édification* de l'organisme des Vertébrés.

Vitamine A — où facteur principal de la croissance — ou vitamine antixérophtalmique. Découverte par MAC COLLUM et DAVIS

en 1913. On la trouve dans l'huile de foie de morue et les huiles de poisson en général, les végétaux verts, le beurre, le jaune d'œuf. Résiste bien à l'action de la chaleur, à celle des acides et à celle des alcalis, n'est pas adsorbée sur le noir végétal.

Vitamine A' ou D (1) — ou facteur antirachitique. Se rapproche du cholestérol dont il est peut-être un dérivé. A pu être obtenue artificiellement en 1927 par ROSENHEIM et WEBSTER par irradiation de l'ergostérol (2). Résiste aux alcalis.

On a décrit encore une vitamine intervenant dans la reproduction et aussi à la fin de la croissance, appelée substance X par EVANS et BISHOP en 1927, substance E par SURE, substance F par FUNK en 1925. Elle se trouve dans l'huile du germe de blé, dans quelques légumes verts, mais non dans la levure. Elle est soluble dans l'éther.

2^o *Vitamines hydrosolubles.* — Ces principes paraissent jouer un rôle essentiel dans les phénomènes assurant le *fonctionnement* de l'organisme.

Vitamine B — ou facteur de l'utilisation des glucides. La vitamine B comprendrait deux facteurs distincts :

- a) le facteur antinévritique qui agit sur le béribéri.
- b) un facteur de croissance.

Décrite en 1911 par C. FUNK. Se trouve dans les cuticules des céréales, dans certains organes glandulaires des vertébrés supérieurs; est particulièrement abondante dans la levure de bière. Résiste bien à la chaleur sèche à 120°, mais mal en milieu humide. Est détruite par les alcalis, à des concentrations assez élevées. Résiste aux acides. Est facilement adsorbée. Donne, avec l'acide phosphotungstique, l'acide phosphomolybdique.

Vitamine C — ou facteur antiscorbutique. Se trouve dans les

1. FUNK et DUBIN donnent en 1921 le nom de vitamine D à un autre facteur, extrait de la levure de bière, et qui favorise la croissance des levures. Nous en parlerons plus loin, dans la III^e Partie.

2. C. FUNK appelle vitamine E la vitamine antirachitique (*Progrès médical*, 13 juin 1925, p. 902). On verra à l'alinéa suivant que l'appellation de vitamine E a été donnée par SURE à une autre vitamine, indispensable à la reproduction.

fruits (citron, orange) et les légumes frais (tomates). Est très sensible aux agents oxydants. N'est pas adsorbée sur la terre à foulon.

On a décrit aussi une vitamine antipellagreuse qui fait partie de ce groupe.

Le problème des vitamines a suscité un très grand nombre de recherches. Les premières découvertes ont permis d'établir une thérapeutique très efficace du rachitisme, du scorbut et du béribéri. Mais, depuis lors, comme le disent M^{me} RANDOIN et H. SIMONNET, il semble qu'il y ait une disproportion entre les résultats généraux précis qui peuvent être formulés et la somme des efforts et des dépenses représentés par tant de travaux. La brève énumération que nous venons de faire montre qu'il n'y a même pas entente sur la terminologie.

Toute l'étude des vitamines a été dominée par la notion de carence et il faut reconnaître que du point de vue pratique on sait maintenant ordonner un régime alimentaire susceptible de mettre à l'abri des accidents causés par une avitaminose aiguë ou partielle. Mais on ne sait rien encore de la nature même des vitamines.

CHAPITRE II

Facteurs de croissances pour les végétaux supérieurs.

AUXIMONES

En 1915, BOTTOMLEY montre l'existence, dans la tourbe de *Sphagnum*, et aussi dans les nodosités des légumineuses, de certaines substances qui sont capables de stimuler la croissance des plantes. Il appelle ces substances auximones (du mot *αὔξιμος*, stimulant); il les rapproche des facteurs activant la croissance, de HOPKINS, et des vitamines de FUNK. Il montre qu'un extrait alcoolique de tourbe « bactérisée », c'est-à-dire ensemencée depuis quinze jours avec une culture mixte de microbes aérobies du sol, stimule la culture de l'*Azotobacter chroococcum*, et stimule en même temps la propriété qu'il possède de fixer l'azote. Le précipité produit par l'acide phosphotungstique ajouté à un extrait alcoolique de tourbe contient la substance active, qui est remise en solution puis précipitée à nouveau par le nitrate d'argent. C'est ce précipité qui est considéré comme une auximone.

Dans les expériences de BOTTOMLEY, les plantes témoins (recevant le liquide nutritif seul) perdent en 50 jours 10,9 % de leur poids, tandis que l'addition d'auximones provoque en 50 jours, chez les plantes traitées, une augmentation de poids de 59 % (voir le graphique ci-joint).

L'auximone contenue dans le précipité produit par le nitrate d'argent est active dans la proportion de 0,35 pour 1.000.000 de parties de liquide nutritif.

Le résistance à la chaleur différencie les auximones des vitamines : les auximones résistent une demi-heure à un chauffage à 134°.

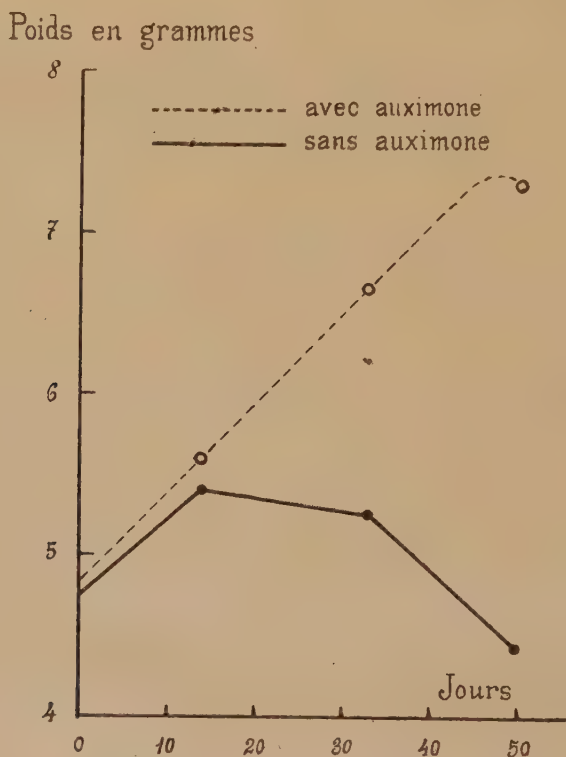


FIG. 1. — Croissance des plantes cultivées avec des auximones (gain de poids en 50 jours), ou sans auximones (perte de poids en 50 jours) (D'après BOTTOMLEY).

MOCKERIDGE étudie dans le laboratoire de BOTTOMLEY le pouvoir favorisant des extraits de tourbe bactérisée sur les bactéries nitrifiantes du sol (*Bacillus radicola* et *Azotobacter chroococcum*). Le tableau suivant exprime en milligrammes d'oxygène fixé les résultats obtenus :

(1) Liquide nutritif seul.....	2,6
(2) Liquide nutritif + extrait aqueux de tourbe ordinaire.....	1,9
(3) Liquide nutritif + extrait aqueux de tourbe bactérisée.....	7,7
(4) Extrait alcoolique de tourbe bactérisée.....	6,5
(5) Précipité de (4) par l'acide phosphotungstique.....	5,6
(6) Précipité de (5) par le nitrate d'argent.....	6,0

Les bactéries nitrifiantes sont donc favorablement influencées dans leur culture par les auximones.

En 1919, MAZÉ a pu cependant assurer l'évolution complète de plants de maïs, à l'abri des microbes, dans une solution purement minérale. Cette solution comprend les sels inorganiques suivants, indépendamment de l'oxygène, de l'hydrogène, de l'azote et du carbone empruntés à l'eau et à l'air : nitrate de sodium, phosphate de potassium, sulfate de magnésium, sulfate ferreux, silicate de potassium, chlorure de zinc, chlorure de manganèse, carbonate de calcium, fluorure de sodium, sulfate d'aluminium, borate de sodium et iodure de potassium.

MAZÉ, dans ses recherches (1916) sur la chlorose du maïs, fait remarquer que certains éléments (qui peuvent être élaborés par d'autres êtres animés), agissant en proportions très minimes, interviennent pour améliorer la végétation, en neutralisant l'effet des toxines sécrétées dans le sol par les cellules des plantes.

LUMIÈRE conclut en 1921 de ses expériences que « les auximones ne sont nullement nécessaires au développement des végétaux, qui peuvent faire leur croissance complète dans des milieux chimiquement définis et même dans des solutions purement minérales convenablement choisies ». Le pouvoir favorisant attribué aux auximones peut aussi bien être attribué aux produits, mieux définis, qui les accompagnent.

De même que les résultats obtenus dans l'étude des vitamines des animaux supérieurs manquent de cohésion, les conclusions des recherches relatives aux auximones des végétaux supérieurs n'ont donc pas obtenu l'adhésion unanime des chercheurs.

DEUXIÈME PARTIE

Facteurs favorisant la culture des microbes.

FACTEURS FAVORISANT LA CULTURE DES MICROBES

Un très grand nombre de travaux ont été consacrés à l'étude des facteurs qui peuvent stimuler la vie des microbes sur des milieux de culture artificiels. Malheureusement il y a peu d'accord entre les chercheurs. Partant de points de vue différents, utilisant des techniques disparates, ils arrivent souvent à des résultats qui ne sont pas superposables. Il nous a semblé que pour mettre de l'ordre dans l'exposé de toutes ces recherches, et rendre possible la comparaison de leurs résultats, le meilleur classement consistait à les ranger d'après l'origine des facteurs de croissance des microbes.

On a pu constater la présence de principes favorisant la culture des microbes sur milieux artificiels dans les différentes classes d'êtres animés, appartenant au règne animal, au règne végétal et aux groupements microbiens eux-mêmes.

Parmi les microbes, il faut distinguer les végétaux inférieurs (levures et champignons), les bactéries, les animaux inférieurs (protozoaires).

Dans notre exposé, nous considérerons donc successivement l'effet, sur ces diverses catégories de microbes, des facteurs de croissance fournis par les mêmes séries microbiennes, par les plantes, par les animaux.

CHAPITRE PREMIER

FACTEURS DE CROISSANCE D'ORIGINE MICROBIENNE

I. — EXTRAITS DE VÉGÉTAUX INFÉRIEURS

A. — Extraits de levure.

1^o LEUR ACTION SUR LES LEVURES.

PASTEUR a montré, dès le début de ses travaux sur les générations dites spontanées, que des quantités extrêmement petites de cellules de levure,ensemencées dans un milieu minéral, sucré, composé de corps chimiquement purs, grandissent et se multiplient en s'assimilant une partie de la matière fermentescible. Mais c'est PASTEUR lui-même qui, dès 1858, et à plusieurs reprises, signale que la levure prend un plus grand développement dans les milieux minéraux si on leur ajoute certaines substances. Il faut donc faire remonter à PASTEUR la notion des facteurs favorisant les cultures microbiennes. En raison de l'importance de ces faits fondamentaux, nous donnons ci-dessous de larges extraits des publications de PASTEUR :

.....
« On observe des différences d'énergie très sensibles dans la
« levure formée, suivant qu'on lui donne un aliment plus ou moins
« bien approprié à sa véritable nature » (1)
.....

1. L. PASTEUR, Nouveaux faits concernant l'histoire de la fermentation alcoolique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 47, 20 déc. 1858, p. 104, et *Œuvres*, t. II, p. 32.

« Dans une solution de sucre candi pur, je place d'une part un
« sel d'ammoniaque, par exemple du tartrate d'ammoniaque,
« d'autre part la matière minérale qui entre dans la composition
« de la levure de bière, puis une quantité pour ainsi dire impondé-
« rable de globules de levure frais. Chose remarquable, les glo-
« bules semés dans ces conditions se développent, se multiplient
« et le sucre fermente, tandis que la matière minérale se dissout
« peu à peu et que l'ammoniaque disparaît. En d'autres termes,
« l'ammoniaque se transforme dans la matière albuminoïde com-
« plexe qui entre dans la constitution de la levure, en même temps
« que les phosphates donnent aux globules nouveaux leurs prin-
« cipes minéraux. Quant au carbone, il est évidemment fourni
« par le sucre.

« Voici, par exemple, la composition d'une des liqueurs em-
ployées :

« 10 grammes sucre candi pur.

« Cendres de 1 gramme de levure obtenues au moufle d'un fourneau de
coupelle.

« 0 gr. 100 tartrate droit d'ammoniaque.

« Traces de levure de bière fraîche, lavée, de la grosseur d'une tête d'é-
pingle, à l'état frais, humide, perdant 80 % d'eau à 100°.

« Dans un pareil mélange, le vase étant rempli jusque dans le
« goulot et bien bouché, ou muni d'un tube à gaz plongeant dans
« l'eau pure, la fermentation se déclare. Après vingt-quatre à
« trente-six heures, la liqueur commence à donner des signes sen-
« sibles de fermentation par un dégagement de bulles microscopiques,
« qui annoncent que le liquide est déjà saturé d'acide carbonique.
« Car je ne crois pas que la fermentation se manifeste par un dégagement
« de gaz apparent avant que cette condition de saturation soit remplie.

« Les jours suivants, le trouble de la liqueur augmente progressivement,
« ainsi que le dégagement de gaz qui devient assez sensible pour que
« la mousse remplisse le goulot du flacon. Un dépôt couvre peu à peu le
« fond du vase.

.
« Il ne faudrait pas croire néanmoins que la fermentation
« devienne jamais aussi active que si, au lieu d'ammoniaque pour
« aliment azoté des globules semés, on se servait d'une matière
« albuminoïde appropriée, comme celle du raisin, du jus de bette-
« raves, ou la partie soluble de la levure de bière ordinaire. Sème-t-
« on dans de l'eau sucrée, mêlée d'un peu de ces matières albu-
« minoïdes, des globules de levure frais, les phénomènes généraux
« seront en tous points les mêmes que ceux que je viens de décrire,
« mais la fermentation sera très sensiblement plus active. Par
« exemple, au lieu de se déclarer après trente-six à quarante-huit
« heures, les premières petites bulles d'acide carbonique appa-
« raissent déjà au bout de douze à vingt-quatre heures. En outre,
« la quantité de levure formée et déposée dans le même temps est
« bien supérieure; mais, je le répète, tout est pareil avec une énergie
« plus grande et les produits formés sont rigoureusement les mêmes.

« Rien n'est curieux comme cette influence de la nature azotée
« et minérale du milieu sur l'activité de la fermentation. J'ai fait
« à cet égard des expériences multipliées dont je rapporterai quelques
« résultats. L'un des plus intéressants est relatif à l'emploi de
« l'albumine du blanc d'œuf. J'ai été fort surpris de trouver cette
« matière tout à fait impropre à nourrir les globules de levure de
« bière. Que l'on dissolve du sucre dans de l'albumine d'œufs frais
« délayée dans l'eau et filtrée, rendue ou non très peu acide, que
« l'on ajoute une très petite quantité de levure de bière, les glo-
« bules semés ne se développeront pas du tout; il n'y aura pas
« trace de fermentation.

.
« Les choses se passent bien différemment, avec le sérum du
« sang ou les liquides exprimés des muscles. Le sérum limpide,
« incolore, étant additionné de sucre et de quelques globules de
« levure, permet à ceux-ci de se développer avec une merveilleuse
« facilité, et le sucre fermente presque aussi facilement que si l'on
« se servait d'un jus sucré naturel ou d'eau de levure limpide. Ce
« n'est pas, je pense, que l'albumine du sérum ait une nature diffé-

« rente de celle du blanc d'œuf ; je crois que cela tient à d'autres
« matières albuminoïdes qui accompagnent l'albumine dans le
« sang et qui sont par leur nature individuelle propres à la nour-
« riture des globules de levure.

« Quoi qu'il en soit, n'est-il pas bien remarquable de voir un
« sel d'ammoniaque capable de servir à la nourriture des globules
« de levure, leur fournir leurs principes albuminoïdes, et l'albu-
« mine pure du blanc d'œuf y être entièrement impropre ? On-
« comprend ainsi que la distance peut être grande entre les diverses
« espèces de ce groupe générique désigné par l'expression de ma-
« tières albuminoïdes ou protéiques. J'ai remarqué également que
« certaines matières protéiques sont bien plus que d'autres favo-
« rables au développement de la levure lactique : par exemple,
« les parties solubles du gluten, de la caséine, le résidu azoté des
« liquides qui ont subi la fermentation alcoolique (1).

« Sans doute, le milieu minéral que j'emploie dans cette expé-
« rience ne donne pas un développement de levure de bière com-
« parable, à beaucoup près, avec ce que l'on obtient en semant de la
« levure dans du moût, de bière, ou dans l'eau sucrée à laquelle
« on a ajouté des matières albuminoïdes » (2).

Ainsi non seulement PASTEUR a vu que l'addition de traces de
substances organiques stimule considérablement la culture de la
levure, mais il note que certaines matières protéiques sont bien
plus que d'autres favorables au développement des levures.

PASTEUR indique, dans un autre mémoire (3), que tous les

1. L. PASTEUR, Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. de chimie et de physique*, 3^e S., t. 58, 1860, pp. 323-426 et *Œuvres*, t. II, p. 94 et sq.

2. L. PASTEUR, Note sur un mémoire de M. LIEBIG relatif aux fermentations. *C. R. Ac. Sc.*, t. 73, 18 déc. 1871, p. 1419, et *Œuvres*, t. II, p. 363.

3. L. PASTEUR, Mémoire sur la fermentation appelée lactique. *Mém. de la Soc. des Sc. de l'Agricult. et des Arts de Lille*, séance du 3 août 1857, 2^e S., V, 1858, pp. 13-26. *Ann. de chimie et de physique*, 3^e S., t. 52, 1858, pp. 404-418. *Œuvres*, t. II, p. 12.

sucs de fruits ne favorisent pas également la culture de tous les microbes. C'est ainsi qu'il signale que dans le jus d'oignon brut, qui est acide à la manière du jus de raisin, la levure de bière (et aussi les infusoires) ne se développent pas, tandis que le ferment lactique s'y développe toujours bien. « Au contraire, que l'on fasse préalablement bouillir le jus d'oignon, ce qui a pour effet de chasser l'huile essentielle sulfurée et peut-être de modifier les principes albumineux, la levure de bière se développera dans le liquide refroidi avec une efficacité remarquable ». On peut noter à ce propos que cette observation fournit sans doute le premier exemple d'un procédé de séparation des microbes par l'emploi d'un milieu de choix.

WILDIERS reprend en 1901 les idées de PASTEUR et admet que des milieux de culture artificiels, même favorables, sont très notablement améliorés par l'addition de traces de matières organiques non définies, auxquelles il donne le nom de « bios ». Il montre, par ses expériences, que le « bios » existe dans l'eau de levure, ou extrait de levure stérile. Quand on pratique un ensemencement large dans un milieu de culture, on y introduit par la semence même le bios. Ceci explique la richesse du développement que l'on observe dans des milieux minéraux composés de corps chimiquement purs, lorsque la semence a été abondante (1). Il est à remarquer que le bios est absent des cendres de levure. (On le trouve dans le moût de bière, dans la lécithine, dans les peptones commerciales, dans l'extrait de viande Liebig). Il présente les propriétés suivantes : solubilité dans l'eau, l'alcool méthylique et l'alcool à 80° ; insolubilité dans l'alcool absolu et l'éther ; passage à travers le dialyseur ; précipitation par l'acide phosphotungstique ; résistance à la chaleur plus grande en milieu acide qu'en milieu alcalin.

Les recherches de WILDIERS sont confirmées par celles d'AMAND (1902) et de DEVLOO (1906). AMAND montre que si l'ensemence-

1. Cette idée a été reprise, comme nous le verrons au chapitre des facteurs d'origine bactérienne, au sujet de l'apport nutritif que constituent les cadavres de cellules bactériennes introduits avec les bactéries vivantes.

ment de faibles quantités de cellules de levure ne donne pas lieu à des cultures abondantes, il ne faut pas en accuser la toxicité des liquides nutritifs ; il confirme ainsi la théorie de WILDIERS que les

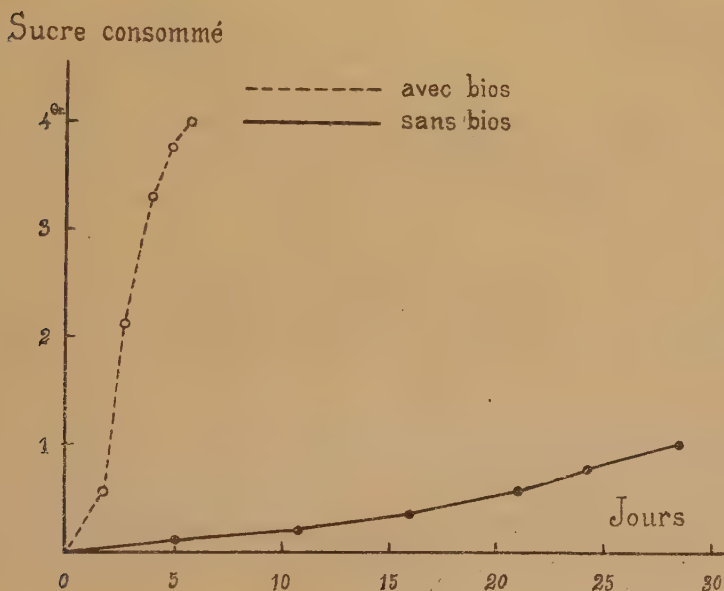


FIG. 2. — Influence du bios sur le développement de la levure de bière (d'après IDE). L'intensité de la culture est mesurée par la perte du poids, due à la consommation du sucre

ensemencements larges produisent des cultures luxuriantes par suite de l'action favorisante du bios contenu dans les nombreuses cellules apportées.

Plus tard, LAMPITT montre, en 1921, que le nombre de cellules de levures produites en culture dépend du nombre des cellules ensemencées. Par exemple on a une culture tout à fait chétive, si l'ensemencement ne dépasse pas le taux de 1 cellule pour $1/4000^e$ de centimètre cube. Le fait peut être expliqué de la façon suivante : un ensemencement copieux contient un grand nombre de cellules mortes dont le bios libéré est utilisé par les cellules vivantes.

Nous savons, dans les laboratoires, que l'abondance de la semence est parfois préjudiciable au développement de la culture. C'est ce qu'a vu VANSTEENBERGE.

VANSTEENBERGE, en 1917, étudie l'action des autolysats de levure, obtenus par un séjour de 24 heures à 48°-49°, sur la culture des levures et sur la culture des bactéries lactiques. Il constate ce fait important qu'au-dessus d'une concentration optima ces autolysats ne sont plus favorables, mais, au contraire, nuisent à la culture des microbes. Il trouve aussi que certains produits de décomposition exercent une action empêchante. La leucine, qui favorise la culture au taux de 0,08 %, l'empêche à 0,66 % ; la tyrosine la favorise jusqu'à 0,05 %, l'empêche ensuite ; l'asparagine est empêchante au-dessus de 1 %. L'autolysat doit être dilué pour agir de la meilleure façon.

En 1923, WYON et MAC LEOD reprennent et développent les recherches de VANSTEENBERGE, et arrivent aux mêmes résultats. Les acides aminés qui sont empêchants aux plus basses dilutions sont l'histidine, la tyrosine, le tryptophane, la phénylalanine, la cystine.

WILLIAMS, en 1919, obtient un extrait de levure très actif, en employant la méthode d'adsorption sur la terre à foulon.

Les conclusions de WILDIERS ont été discutées : H. H. PRINGSHEIM, en 1906, estime que le bios de WILDIERS n'est pas autre chose qu'une albumine qui est plus assimilable sous la forme où elle existe dans la cellule de levure.

RUBNER, en 1913, donne une explication d'ordre physique : la culture de levure ne se produit que s'il existe un certain rapport entre la quantité du milieu nutritif et le nombre de cellules de levure. C'est la tension du milieu nutritif qui agit comme un stimulant de la culture.

D'autres auteurs vont plus loin et mettent en doute la nécessité, pour la culture de la levure, de l'addition de facteurs favorisants. Ainsi SOUZA et MAC COLLUM, en 1920, affirment que l'adjonction de glucose ou d'acides aminés suffit pour stimuler la culture. Ils tirent leurs acides aminés de l'hydrolyse de la viande.

De même, FULMER, NELSON et SHERWOOD, en 1921, constatent que la levure peut pousser sur des milieux de culture sans facteurs de croissance. Ils se servent d'un milieu composé de plusieurs sels, de saccharose et de dextrine.

FULMER et NELSON, en 1922, rapportent que, sur ce milieu de culture, qu'ils appellent milieu de culture F, ils ont pu repiquer une levure 300 fois de suite en deux ans.

MAC DONALD et MAC COLLUM, en 1921, cultivent également la levure dans un milieu composé de corps chimiquement purs :

Saccharose	50 gr.
KH ₂ PO ₄	2 gr.
(NH ₄) SO ₄	2 gr. 35
Ca Cl ₂	0 gr. 25
Mg SO ₄	0 gr. 25
Eau distillée	1.000 cmc.

DARRAH trouve que plusieurs générations successives de levures peuvent pousser dans un milieu dépourvu de facteurs de croissance.

D'après HARDEN et ZILVA, *Saccharomyces ellipsoïdeus* a moins besoin de facteurs de croissance que *S. cerevisiae*.

Toutefois, d'après HELLER (1923), comme d'après FULMER, NELSON et SHERWOOD, *Saccharomyces cerevisiae* peut se développer dans des milieux de constitution définie.

MAC-DONALD écrit en 1923 que le bios ne semble pas être un

facteur absolument indispensable à la croissance de la levure, car celle-ci peut se développer, *très lentement il est vrai*, dans un milieu constitué exclusivement par des substances nutritives purifiées, et produire elle-même le facteur stimulant.

Les résultats de FULMER, NELSON, et SHERWOOD sont discutés par EDDY, HEFT et STEVENSON, en 1921, sans qu'ils puissent donner la véritable raison des faits annoncés par ces auteurs. En effet, il ne faut pas tenir compte seulement, comme FULMER, NELSON et SHERWOOD, des facteurs de croissance qui peuvent être introduits dans un milieu de culture par les « impuretés » de ses composants, mais aussi de ceux que peut apporter un ensemencement large contenant un certain nombre de cellules mortes, comme l'a déjà vu WILDIERS, et comme le répète WILLIAMS dans le travail suivant.

En 1921, WILLIAMS publie de nouvelles expériences desquelles il résulte « qu'on ne peut observer une proportionnalité entre la quantité de levure produite et la proportion de facteurs favorisants ajoutée au milieu que lorsqu'on opère avec des semences de levure très réduites et qu'on pèse la quantité de levure obtenue avant que la fermentation soit arrivée à son point culminant. En ensemençant largement et en prolongeant la fermentation, on risque de voir les facteurs exercer une action nettement retardatrice » (SCHOEN).

IDE, directeur du laboratoire où WILDIERS, AMAND et DEVLOO avaient travaillé, s'élève en 1921 contre les conclusions de MAC DONALD et MAC COLLUM. Il distingue deux modes de développement des cultures de levures : une croissance lente quand le bios manque, une croissance rapide lorsqu'il existe. Le bios n'est donc pas strictement obligatoire pour la culture de la levure, mais la favorise grandement. IDE fait aux recherches de MAC DONALD le reproche de n'être pas à l'abri du soupçon de l'intervention d'impuretés. La pureté des milieux et du matériel doit être vérifiée par un

contrôle soigneux et répété. On voit parfois des cultures, qui semblaient pures, être contaminées, au bout de plusieurs semaines, par des cocci de très petites dimensions.

Les travaux de WRIGHT en 1922 confirment l'impossibilité d'obtenir une culture de levure en milieu chimiquement défini ; le développement ne se fait qu'en présence de certains corps organiques, apportés, dans les expériences de l'auteur, par du jus de citron ou de l'extrait de levure.

Pour répondre aux objections que l'on oppose aux auteurs qui prétendent que la levure peut pousser sur des milieux synthétiques, FULMER, NELSON et WHITE emploient, en 1923, un milieu de culture composé de sels nutritifs purifiés :

Chlorure d'ammonium	0 gr. 188
Biphosphate de potassium.....	0 gr. 100
Chlorure de calcium	0 gr. 100
Carbonate de calcium.....	0 gr. 04
Eau Q. S. pour.....	100 cmc.

auquel ils ajoutent un sucre de synthèse, le méthose, obtenu à partir de l'aldéhyde formique pur, suivant la méthode de LÆW. Dans ces conditions on ne peut pas supposer que le milieu de culture comporte des traces de bios.

D'autre part, pour écarter la possibilité de l'introduction de bios par la semence, on n'ensemence que de très petites quantités de levure (concentration maxima de la semence, $1 \cdot 10^6$). Dans ces conditions, des cultures successives abondantes de levure ont pu être obtenues. Les auteurs concluent que les aliments de synthèse suffisent pour permettre la croissance normale de la levure.

WILLAMAN et OLSEN, en 1923, trouvent que la présence du bios est indispensable au développement normal de la levure. La vitesse et la richesse des cultures sont proportionnelles, jusqu'à un point optimum, à la quantité de bios ajoutée.

D'autres chercheurs ont étudié de près cette question de la possibilité de la culture de la levure dans des milieux minéraux dépourvus en apparence de facteurs de croissance. On est arrivé à cette conclusion que les facteurs de croissance sont apportés dans les milieux de culture par les « impuretés » de leurs composants. Après avoir mis hors de cause certains éléments (sels, eau, etc.), on a pu se rendre compte que des facteurs de croissance peuvent exister dans les impuretés habituelles d'autres substances, telles que le saccharose.

MAC DONALD et MAC COLLUM dans leurs recherches (*v. supra*) purifiaient le saccharose par précipitation avec l'alcool absolu, dans une solution aqueuse concentrée.

FUNK et FREEDMANN purifient de leur côté le saccharose par agitation avec la terre à foulon et recristallisation dans l'alcool absolu. Que le saccharose soit purifié par l'une ou l'autre méthode, la levure pousse plus mal dans les milieux au saccharose purifié que dans les milieux au saccharose ordinaire. Les recherches de FUNK montrent la production suivante de levure en 14 jours :

Milieu avec saccharose ordinaire.....	69 milligr. 5
Milieu avec saccharose purifié.....	24 milligr. 6

On constate aussi une différence morphologique. Dans le milieu au saccharose ordinaire, les cellules sont normales, bourgeonnent activement, tandis que dans le milieu au saccharose purifié, les éléments ressemblent à des spores brunâtres, avec une enveloppe cellulaire ridée.

FUNK montre que les solutions-mères qui ont servi à la cristallisation du saccharose contiennent des facteurs de croissance et que les semences apportent d'autant plus de facteurs de croissance dans les milieux stériles où elles sont déposées que les milieux d'où elles proviennent en contiennent davantage. FUNK estime que les facteurs de croissance qui favorisent la culture des levures

sont de même nature que les vitamines pour animaux supérieurs et les désigne sous le nom de vitamine D.

EDDY, KERR, et WILLIAMS annoncent, en 1924, qu'ils sont parvenus à isoler de la levure à l'état pur une substance cristallisée possédant les propriétés physiologiques du bios. Cet extrait est tiré de la levure autolysée sous du toluène. Le filtrat obtenu est dilué dans l'alcool, puis précipité à l'aide d'hydroxyde de fer colloïdal. On obtient 7 mmg. pour 3 kgs. de levure. Le point de fusion des cristaux obtenus est 223° : la formule chimique est $C^5 H^{11} NO_3$. La substance isolée est soluble dans l'eau, les acides et les alcalis faibles, l'alcool à 80 %, insoluble dans l'éther et l'acétone. Au taux de 0 mmgr. 005 par centimètre cube dans des milieux minéraux, elle exerce une forte action favorisante sur le développement de la levure.

* * *

Il est nécessaire de signaler que certains facteurs paraissent agir non pas sur la culture de la levure, mais sur la production de diastases par la levure.

FRAENKEL et SCHWARTZ tirent en 1920 de la levure comme aussi du son de riz des extraits qui accélèrent la fermentation alcoolique d'une façon continue, tandis que les substances étudiées par NEUBERG et ses collaborateurs : les aldéhydes, les acides cétoniques, etc. ne provoquent qu'une accélération du départ de la fermentation.

MILLER, en 1921, extrait de la levure une substance qui, ajoutée au milieu où l'on cultive une levure, augmente très sensiblement la teneur en sucrase de cette levure, et qui est tout à fait différente du facteur favorisant la culture de la levure. Ce facteur stimulant la production de sucrase est soluble dans l'alcool à 70-90 % et encore plus soluble dans l'eau. L'auteur a séparé les deux facteurs de la sucrase et de la croissance, soit

par l'extraction avec de la benzine, soit par l'adsorption sur de la terre à foulon, soit par la précipitation avec l'acide phosphotungstique.

SAMMARTINO, en 1921, constate que les facteurs extraits de certains produits organiques, qui stimulent la fermentation de la levure, n'agissent pas sur la cellule de levure en stimulant sa multiplication, mais agissent directement sur la zymase elle-même séparée de la levure. En présence de ces facteurs, la vitesse de la fermentation, mesurée par le volume d'acide carbonique dégagé, est deux fois environ plus grande qu'en leur absence. Ces facteurs semblent spécifiques, car ils n'influencent pas d'autres enzymes, telles que la pepsine et la trypsine.

FRAENKEL et HAGER, étudiant en 1922 l'action favorisante d'extraits de tissus animaux sur la fermentation alcoolique, voient que leur action, comme celle des extraits de levure, s'exerce pendant toute la durée de la fermentation, tandis que l'action « catalytique » déterminée par des substances chimiques diverses ne se manifeste que dans la première phase de la fermentation.

* * *

En résumé, comme l'avait déjà vu PASTEUR, les extraits de levure contiennent un facteur qui stimule puissamment la croissance de la levure.

2° ACTION DES EXTRAITS DE LEVURE SUR LES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS.

L'eau de levure, qui favorise la culture des levures, stimule également celle des champignons inférieurs. C'est ainsi que RAULIN, après avoir établi la formule de la combinaison optima de sels minéraux chimiquement purs pour la culture de l'*Aspergillus niger*, montre que l'addition d'eau de levure favorise un développement abondant du mycélium.

WILLAMAN cherche à cultiver le *Sclerotinia cinerea* (SCHRÖTER) dans un milieu artificiel composé d'une solution de sels purs, de saccharose et d'un nitrate. Il n'obtient aucun résultat, même en ajoutant de l'asparagine et aussi un acide aminé. Au contraire il obtient une culture, s'il ajoute de l'extrait de levure.

LUMIÈRE constate, en 1921, que l'addition de levure *carbonisée* à un mélange de solutions de tartrate d'ammoniaque et de glycérine, favorise beaucoup la culture de l'*Aspergillus niger* (*Contra* WILDIERS *v. supra*). Le chauffage à 130° ne modifie en rien le pouvoir excitant la croissance des champignons que possède l'extrait de levure.

3° ACTION DES EXTRAITS DE LEVURE SUR LES BACTÉRIES.

Dès 1898, SPRONCK indique qu'un milieu à la levure est très favorable à la culture du *B. diphtérique* et à la production de la toxine.

En 1900, NOBÉCOURT confirme ces conclusions.

L'extrait de levure a été employé, en 1904, par G. BERTRAND pour la culture du *B. xylinum*.

En 1920, AYERS et RUPP décrivent un milieu de culture pour bactéries préparé avec un extrait sec de levure pure.

En 1919, EBERSON constate que l'addition d'un extrait de levure prolonge de plus d'un mois la vitalité du méningocoque dans une culture. Son milieu est composé de peptone, de phosphate de potassium et de gélose. La levure subit d'abord deux extractions de 2 heures à une température ne dépassant pas 100°. Le milieu additionné de l'extrait est stérilisé une demi-heure à 115°.

MORINI en 1920 cultive le gonocoque sur un milieu à la levure de bière.

En 1922, AYERS et MUDGE constatent que la levure autolysée contient un principe stimulant la culture d'un streptocoque pathogène.

THJÖTTA et AVERY retrouvent en 1920-1921, dans la levure, une substance qu'ils avaient déjà découverte dans le sang et qu'ils avaient appelée facteur V. Nous parlerons plus loin de ce facteur V à propos des extraits de sang. Il suffit d'indiquer ici que cette substance thermolabile, associée à une autre substance thermostable, favorise remarquablement la culture de certaines bactéries pathogènes.

Les facteurs de croissance que possède la levure autolysée ont été utilisés pour la culture de plusieurs bactéries pathogènes ou saprophytes.

KLIGLER a pu, en 1919, cultiver sur de la levure autolysée les bactéries suivantes : bacille dysentérique, bacille diphtérique, streptocoque, staphylocoque, bacille du colon.

DIENERT et GUILLERD, en 1919, utilisent des autolysats de levure pour la culture du bacille du colon. Ils se servent de bouillon fabriqué avec les produits de l'autolyse de 24 heures d'un bloc de 500 grammes de levure pressée porté à la température de 50°. En moins de 24 heures, la liquéfaction est complète et l'on obtient environ 400 cmc. de liquide autolysé qu'on étend à 2 litres avec de l'eau. On soumet ce mélange à la température de l'ébullition durant 30 minutes. On neutralise, on filtre et on complète à 7 l. 500. La levure autolysée donne un milieu de composition très constante (1 gr. 8 d'acides aminés exprimés en glycocolle % de liquide d'autolyse et 0 gr. 150 % de tryptophane).

Ce milieu, d'un faible prix de revient, donne des résultats supérieurs à ceux des bouillons peptonés.

SAZERAC obtient, en 1920, de belles cultures de *B. tuberculeux*

humain et de *B. tuberculeux* bovin sur un milieu contenant de la levure autolysée, contenant des acides aminés de nature variée : 100 grs. de levure de boulangerie sont abandonnés à l'autodigestion, durant 48 heures, à la température de 47°-48°. Au bout de ce temps, la masse semi-liquide obtenue est agitée avec 1 litre d'eau de source ; on filtre, on ajoute 5 % de Na Cl, on alcalinise nettement, on ajoute 4 gr. % de glycérine. On chauffe dans la vapeur fluente 30', on filtre, on stérilise 15' à 115°. 100 gr. de produit d'autolyse renferment 2 gr. 12 d'acides aminés et 0 gr. 18 de tryptophane.

FREEDMAN et FUNK, en 1922, font des expériences sur les principes qui, dans la levure autolysée, favorisent la culture du streptocoque. Un autolysat de levure est filtré. Le filtrat est purifié de ses albumines par l'ébullition. Puis il est agité pendant 3 heures avec de la terre à foulon ajoutée dans la proportion de 50 grammes par litre. Après filtration le liquide n'a rien perdu de ses facteurs favorisants pour le streptocoque. Mais une nouvelle extraction fractionnée avec 100 grammes de terre à foulon par litre enlève les facteurs. On peut récupérer ces facteurs favorisants en traitant la terre à foulon par une solution de baryte à 10 % ajoutée dans la proportion d'un volume 1/2 et agitée avec la terre à foulon à la température de 60° pendant 2 ou 3 minutes. Après filtration et lavage du dépôt, le filtrat est neutralisé avec une solution d'acide sulfurique à 20 %. Après enlèvement du Ba SO⁴, le filtrat est ramené au volume primitif du liquide, au pH 7,4 et stérilisé. Les extraits ainsi obtenus de la première et de la seconde extractions ont conservé les facteurs favorisant la culture du streptocoque.

FREEDMAN et FUNK indiquent l'analogie qui existe entre la nutrition des levures et celle des bactéries, les facteurs favorisant les streptocoques (la vitamine D de Funk) stimulant également la culture des levures.

MURRAY, en 1923, se sert de levure autolysée pour la culture des bactéries nitrifiantes.

JIMENEZ, JÖTTEN, STANDFLUSS et KALLERT tirent, de même, de la levure, un extrait contenant des facteurs favorisant les cultures des bactéries.

4^o ACTION DES EXTRAITS DE LEVURE SUR LES PROTOZOAIRES.

ABDERHALDEN et KÖHLER décrivent, en 1919, l'action favorisante exercée sur la culture de *Flagellés* (Colpodes) par une substance, soluble dans l'alcool, élaborée par la levure au cours de la fermentation alcoolique.

CHAMBERS, en 1919, recherche l'action de la levure et celle de l'eau de pommes de terre, crues ou bouillies, sur la culture des paramécies (*Paramecium caudatum*) que cet auteur entretient dans du lait malté ou de l'infusion de foin. Sur des paramécies nourries avec du lait, l'extrait de pomme de terre a peu d'effet. L'influence de la levure, au contraire, est manifeste. Mais la condition physiologique dans laquelle se trouve la levure au moment de l'expérience est très importante et peut faire varier beaucoup les résultats.

B. — Extraits de champignons inférieurs.

1^o LEUR ACTION SUR LES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS.

RAULIN montre, au cours de ses belles recherches poursuivies dès 1870 que l'*Aspergillus niger* se développe abondamment au sein d'une solution ne renfermant que des substances de constitution chimique parfaitement déterminée.

CURRIE, en 1917, confirme que l'*Aspergillus niger* n'a pas un besoin strict d'un apport étranger pour croître, mais il montre qu'un extrait d'un vieux mycélium ou des parties sporulées du champignon exerce une action stimulante nette sur sa culture.

De même WILLAMAN, en 1920, constate que la culture et par-

ticulièrement la sporulation de *Sclerotinia cinerea* sont activées si l'on ajoute au milieu nutritif des extraits de ce champignon lui-même.

LINOSSIER, en 1919-1920, montre que l'*Oidium lactis*, semencé en milieu minéral, bénéficie de l'apport de petites quantités d'une culture du même *Oidium* sur un milieu identique. Ces substances favorisantes supportent de hautes températures (135°).

LINOSSIER, en 1920, constate que des liquides de culture dans lesquels ont poussé des champignons : *Oidium lactis*, *Mycoderma vini*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor mucedo*, se sont enrichis en facteurs favorables à la croissance des mêmes microbes, ou de microbes différents. Ces facteurs de croissance n'ont aucune spécificité. Un liquide de culture d'*Oidium lactis* agit, pour favoriser le développement de la levure, beaucoup plus activement que le liquide de culture de la levure elle-même. Les espèces qui se passent le plus facilement de facteurs de croissance (*Oidium lactis*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*) sont celles qui en sécrètent le plus.

FRIEDBERGER et DOEPNER, en 1906, montrent que de vieilles cultures de bacilles lumineux, qui ont perdu leur pouvoir lumineux, le récupèrent en présence de diverses moisissures, ou même du filtrat de celles-ci : *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Mucor stolonifer*, *Penicillium glaucum*.

Goy, dans une série de recherches poursuivies en 1921 et 1922, reprend l'étude des conditions de culture de l'*Aspergillus niger*, si bien établies par RAULIN. L'*Aspergillus niger* est extrêmement peu exigeant pour son alimentation, puisqu'il pousse bien sur un milieu artificiel strictement composé de substances minérales. Goy montre que, cependant, ce champignon inférieur pousse nettement mieux, si l'on ajoute à son milieu minéral des traces du filtrat d'une culture de *Mucor mucedo* effectuée en milieu de Mayer :

Phosphate de chaux	0,05
Sulfate de magnésie.....	0,25
Phosphate de potasse.....	0,5
Nitrate d'ammoniaque.....	0,75
Eau	100,00

auquel du saccharose a été ajouté dans la proportion de 6 %.

La substance qui renferme le facteur favorisant élaboré par le mucor est une matière organique cristallisable, et fusible vers 170° à sec, non précipitable par l'acide phosphotungstique, ne présentant aucun des caractères d'un amino-acide et ne décelant pas trace de phosphore ni d'azote. Ce composé n'agit qu'après avoir été chauffé à 85°-90°.

2° ACTION DES EXTRAITS DE CHAMPIGNONS SUR LES BACTÉRIES.

Le filtrat stérilisé de mucor contient des facteurs favorables à la culture de microbes pathogènes: *B. histolytique*, *B. perfringens*, *B. sporogenes*, *B. diphtérique*. Il favorise également la culture du *B. tuberculeux*, à condition d'avoir été ajouté au milieu de culture avant la coagulation de l'albumine.

TEMPÉ, en 1926, montre qu'un extrait de ce champignon inférieur, le *Mucor mucedo*, contient des facteurs stimulants pour la culture du gonocoque. Il associe cet extrait à du sang dans le milieu suivant :

Foie de cheval coupé en morceaux.....	500 gr.
Eau.....	1.000 cmc.

Après ébullition, et filtration, ajouter :

Peptone Chapoteaut	20 gr. p. 1.000
Après neutralisation, gélose	20 gr. p. 1.000.
Stérilisation à 120°.	

On ajoute à ce milieu, dans chaque tube de 10 cmc. :

1° 1 cmc. de sang laqué, obtenu par hémolyse de 1 partie de sang dans 4 parties d'eau distillée ;

2° 1 cmc. de filtrat de mucor à travers une bougie de Chamberland et chauffé à 110°-115° pendant 15 minutes.

L'action activante du mucor se manifeste même à la dose de 1 ou 2 gouttes de filtrat pour 10 cmc. de milieu ; elle n'apparaît qu'après chauffage à 80° au moins. Le facteur favorisant traverse la bougie Chamberland, il est thermostable et résiste à un chauffage prolongé à 120°.

II. — EXTRAITS DE BACTÉRIES

1° LEUR ACTION SUR LES LEVURES.

Dès 1893, d'ARSONVAL et CHARRIN constatent que le bacille pyocyanique tué, ou bien un filtrat de culture de bacille pyocyanique stimulent la culture de la levure de bière et activent sa fermentation.

2° LEUR ACTION SUR LES BACTÉRIES.

Tandis que la plupart des bactéries saprophytes cultivent facilement sur des milieux artificiels et même parfois sur des milieux purement minéraux, beaucoup de bactéries pathogènes ne se multiplient pas dans ces conditions. Le bacille isolé par PFEIFFER de cas de grippe est la bactérie qui a été le mieux étudiée sous ce rapport. Elle peut servir de type pour les bactéries ne poussant sur milieux artificiels qu'en présence de facteurs stimulants.

GRASSBERGER, en 1897, observe un renforcement des colonies de B. de Pfeiffer qui poussent sur gélose au voisinage de colonies de staphylocoques. Il appelle « colonies géantes » ces colonies qui sont stimulées par la présence de bactéries d'espèces différentes. S'il ajoute au milieu neuf une culture de staphylocoque doré chauffé à la vapeur fluente 15 minutes, le phénomène se produit, mais non régulièrement. GRASSBERGER conclut que le facteur de croissance contenu dans les staphylocoques n'est pas modifié par un chauffage à 100° ne dépassant pas 15 minutes.

CANTANI, en 1900, indique le moyen de faire pousser le B. de Pfeiffer sur des milieux qui lui sont impropres. Il suffit de déposer sur ces milieux des bactéries mortes.

KOLLATH donnera plus tard à ce mode de nutrition le nom de « cannibalisme » (Voir plus loin).

En 1903, NEISSER obtient des cultures de B. de Pfeiffer en ensemençant, en même temps que lui, d'autres espèces bactériennes, qui jouent le rôle de « bactéries nourrices » (*Ammenkeime*). Le B. de Pfeiffer pousse, soit mélangé aux « germes nourrices », soit en culture pure au voisinage des colonies du germe associé.

GHON et PREYSZ, en 1902, confirment en partie les travaux précédents ; ils rendent propre à la vie du B. de Pfeiffer la gélose ordinaire, quand ils lui ajoutent des bactéries mortes.

LUERSSSEN peut stimuler la culture de B. de Pfeiffer en mêlant à la gélose du *B. prodigiosus* mort, mais il n'y réussit pas en répandant simplement le *B. prodigiosus* à la surface de la gélose.

KNORR fait remarquer que les « bactéries associées » (*Ammenkeime*) n'agissent favorablement que dans les milieux où manquent complètement les facteurs de croissance. Dans les milieux qui, au contraire, en sont pourvus, les germes associés non seulement deviennent inutiles, mais peuvent même être nuisibles.

KOLLATH, expérimentant avec le B. de Pfeiffer, fait remarquer qu'un milieu de culture auquel les germes associés n'ajoutent aucune qualité doit être considéré comme un milieu « optimum ».

Lorsque les bactéries associées sont cause d'une détérioration, au lieu d'une amélioration, du milieu de culture, on voit se former, autour des colonies de germes associés, des zones « d'empêchement », où le B. de Pfeiffer ne pousse pas. On peut expliquer ce phénomène de plusieurs façons : les bactéries associées ont pu produire un léger excès d'acide ou d'alcali, qui a pu être néfaste

si le B. de Pfeiffer était auparavant à la limite de la tolérance. Ou bien les bactéries associées ont pu sécréter des ferments peptonisants qui ont lésé la substance nutritive proprement dite (que KOLLATH appelle *la troisième substance*).

KOLLATH montre que l'action des colonies associées est augmentée par l'addition d'une suspension de bacilles de Friedländer. Elle est augmentée aussi par l'addition de glucose, mais celui-ci ne facilite la culture que parce qu'il est facilement assimilable.

En 1922, WEICHARDT montre que l'addition de cultures de B. de Friedländer exerce également une action favorisante sur la culture du streptocoque. On note des différences de l'ordre suivant : un milieu témoin ne donnant aucune colonie de streptocoque, l'addition de 0,2 0/00 d'un extrait de culture de B. de Friedländer provoque la culture du streptocoque dont on compte plus d'un million de colonies.

THJÖTTA et AVERY ayant démontré, en 1920-1921, que les facteurs de croissance pour les bactéries qui se trouvent dans le sang sont au nombre de deux : le facteur X et le facteur V (1), ont découvert, en même temps, que le facteur V se retrouve également dans les tissus végétaux, et dans les corps bactériens eux-mêmes.

DAVIS décrit à son tour, en 1921, sous le nom de « phénomène de satellitisme », l'influence favorable que certaines bactéries exercent sur la culture d'autres bactéries, en l'espèce du B. de Pfeiffer. Cette action stimulante se traduit par une culture plus abondante du Pfeiffer autour des colonies microbiennes associées. Toutes les bactéries essayées favorisèrent la culture de B. de Pfeiffer : staphylocoque blanc et doré, streptocoque hémolytique et streptocoque *viridans*, pneumocoques 1, 2, 3 et plusieurs souches du grou-

1. Voir plus loin le Chapitre relatif aux « facteurs d'origine animale favorisant les cultures microbiennes ».

pe 4, méningocoque, *Micr. catarrhalis*, B. diphtérique, B. pseudo-diphtérique, *Sarcina lutea*, B. du colon, B. typhoïdique, paratyphoïdiques A et B, *B. dysenteriae*, *Spirillum Metchnikowi*, gonocoque, B. de Friedländer, B. pyocyannique, *B. prodigiosus*, *B. sporogenes*, *B. enteritidis*, *B. faecalis alcaligenes*, des bactéries saprophytes, plusieurs souches de levure, etc...

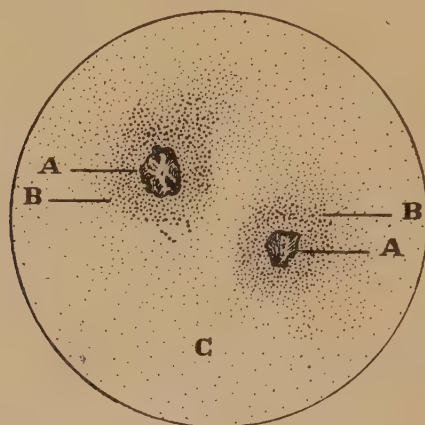


FIG. 3. — Cultures associées sur gélose au sang :

- A = colonies de Pneumobacille (B. de Friedländer).
 - B = colonies satellites de B. de Pfeiffer, stimulées par le voisinage des Pneumobacilles.
 - C = colonies de B. de Pfeiffer non stimulées.
- Phénomène des « colonies géantes » de Grassberger.
 Phénomène des « colonies-nourrices » de Neisser.
 Phénomène du « satellitisme » de Davis.
 (D'après des photographies de Kollath.)

L'effet stimulant est produit par les bactéries vivantes, et par les bactéries tuées quand celles-ci sont incorporées au milieu de culture, mais non pas quand elles sont déposées sur le milieu de culture ; on en conclut qu'il est nécessaire que le facteur diffuse dans le milieu nutritif. Ce facteur n'est pas thermostable.

Les facteurs favorisant pour le B. de Pfeiffer, provenant des colonies « satellites » et diffusant dans les milieux nutritifs ou contenus dans les extraits de bactéries, semblent agir en association avec l'hématine ou l'hémoglobine.

DAVIS utilise le phénomène du satellitisme pour la classification des bactéries hémophiles :

B. de Pfeiffer de la grippe ;

B. pertussis de Bordet de la coqueluche ;

B. de Morax des conjonctivites subaiguës ;

B. de Ducrey du chancre mou ;

B. de Weeks des conjonctivites aiguës.

Le bacille de Weeks se comporte comme le B. de Pfeiffer.

Le B. de Pfeiffer est le seul qui soit favorablement influencé dans sa culture par des souches homologues ou hétérologues, tandis qu'il semble que les autres bactéries hémophiles ne révèlent jamais une stimulation de leur culture due au commensalisme. Elles favorisent cependant elles-mêmes la culture du B. de Pfeiffer.

DAVIS en 1921, RIVERS et LEUSCHNER en 1921, KRISTENSEN en 1922, ont utilisé l'action favorisante positive ou négative produite par certaines bactéries hémophiles à l'égard d'autres bactéries hémophiles pour les différencier les unes des autres : bacille de Pfeiffer (hémolytique, non hémolytique), B. de Weeks des conjonctivites aiguës, B. de Morax des conjonctivites chroniques, *B. pertussis* de la coqueluche, B. de Ducrey du chancre mou, *B. canis* de Friedberger. Ce mode de différenciation donne des résultats intéressants.

En 1924 et en 1925, KNORR, et KNORR et GEHLEN ont montré la ressemblance très grande du B. de Pfeiffer et du B. de Weeks, et à ce propos, ont fait une étude approfondie des caractères biologiques de ces deux bactéries hémophiles.

THJÖTTA montre en 1921 le pouvoir favorisant la culture du B. de Pfeiffer que possède la *substance mucoïde* sécrétée par le B. de Friedländer et par d'autres bactéries. THJÖTTA met en évidence la présence de ces facteurs favorisants dans les suspensions salines des cultures de ces bactéries tuées par la chaleur et aussi dans l'extrait aqueux de ces cultures. Les extraits activants peuvent

être bouillis pendant 10 minutes, (mais non pas être chauffés à 115°) et filtrés à travers une bougie Berkefeld, sans perdre leur pouvoir de stimuler la croissance. Ils sont solubles dans l'eau. Ils contiennent très peu d'azote, environ 0.116 %.

Le pouvoir activant se fait sentir, par rapport aux tubes témoins en bouillon ordinaire, de deux façons : par une culture plus abondante et par une incubation plus courte de la culture. On voit souvent la culture apparaître après 3 à 4 heures et on peut constater la présence d'ondes bactériennes après 6 heures. L'effet de ces extraits est plus facile à voir en milieux liquides que sur milieux solides.

KOLLATH, en 1924, ensemençant du B. de Pfeiffer sur des milieux ordinaires, qu'il appelle « milieux de famine » à l'égard de ce microbe, vérifie le fait connu que le B. de Pfeiffer n'y pousse pas. Mais il constate qu'au commencement de la strie d'ensemencement, et aussi en d'autres points, de petites colonies discrètes se forment, dont la croissance s'arrête vite d'ailleurs, après l'apparition de formes de dégénérescence. On considère d'ordinaire ces petits amas comme formés par la semence elle-même. KOLLATH pense au contraire qu'il s'agit d'une vraie culture développée par les B. de Pfeiffer aux dépens des cadavres de bactéries que contenait la semence apportée. C'est pourquoi, sur ces milieux « de famine », les colonies n'apparaissent que sur les points où le dépôt de semence est le plus épais, et c'est pourquoi aussi la croissance de ces colonies est fort limitée dans le temps. KOLLATH emploie, pour désigner ce mode de nutrition des bactéries, le terme de « cannibalisme ».

En dehors des bactéries hémophiles, les bacilles acido-résistants (B. tuberculeux, B. de Johne), ont été cultivés sur les milieux artificiels grâce aux facteurs de croissance.

Dans une série de travaux, à partir de 1912, TWORT et INGRAM

démontrent que le bacille acido-résistant de Johne, qui cause l'entérite chronique hypertrophiante ou pseudo-tuberculeuse des bovins, qui ne pousse pas sur des milieux nutritifs ordinaires, peut y pousser cependant quand on incorpore au préalable à ces milieux d'autres bacilles acido-résistants, pathogènes ou non, ou même simplement des extraits glycérinés de ces bacilles.

TWORT et INGRAM obtiennent les meilleurs résultats avec le bacille de la phléole, de moins bons avec le bacille tuberculeux humain, de moins bons encore avec le bacille tuberculeux aviaire, des résultats nuls avec le bacille tuberculeux bovin. Les préférences de M'FADYEAN, SHEATHER et EDWARDS ne vont pas aux mêmes bacilles acido-résistants. Ils mettent en première ligne le bacille tuberculeux aviaire, ils obtiennent des résultats souvent aussi favorables avec le bacille humain et avec le bacille de la phléole, ils disent que la culture est possible avec le bacille bovin. Ils préfèrent aux corps microbiens tués un extrait glycériné obtenu à l'autoclave à 115° avec de la glycérine à 20 %.

TWORT et INGRAM signalent le fait intéressant qu'une souche de bacille de Johne, repiquée au laboratoire depuis 18 mois, a pu pousser sur du bouillon de foie glycériné, sans facteurs favorisants. Le bacille de Johne peut donc subir, sur les milieux artificiels, cette adaptation ou cette mutation que l'on connaît chez la plupart des bactéries hémophiles.

LOCKEMAN écrit en 1919 que les substances nutritives absolument nécessaires à la culture du bacille tuberculeux se réduisent à l'asparagine comme source d'azote, à la glycérine et à des sels inorganiques de phosphore, de potassium et de magnésium.

Le travail suivant démontre au contraire l'importance de facteurs activants pour la culture du bacille tuberculeux.

BORREL, BOEZ et de COULON montrent, en 1923, que les produits de culture du bacille tuberculeux contiennent des facteurs favorisant la croissance de ce bacille. L'addition de quantités variant de 5 cmc. à 1/1.000.000 cmc. de filtrat de liquide de culture de 2 mois

de bacilles humains à un milieu synthétique donne les résultats suivants : Quantités de bacilles récoltés au 40^e jour (pesés après un séjour de 3 heures à l'étuve à 70°) :

Pour 5 cmc. de liquide ajouté.....	0 gr. 20
1 cmc.....	0 gr. 60
1/10	0 gr. 60
1/100	0 gr. 68
1/1.000	0 gr. 62
1/10.000	0 gr. 39
1/100.000	0 gr. 45
1 ^{er} témoin	0 gr. 33
2 ^e témoin.....	0 gr. 39

Le facteur activant traverse les filtres Chamberland L¹ et même L³.

L'action de la chaleur sur ce facteur stimulant est intéressante à noter :

A 60° elle favorise le facteur.

A 110° et même 120°, elle ne le détruit pas après 15 minutes ;

A 180°, à l'étuve sèche pendant 1 heure, elle le détruit.

Ce n'est pas seulement dans les filtrats de cultures de *B. tuberculeux*, nous l'avons vu, qu'on peut trouver des facteurs favorisant la croissance de ce bacille : les filtrats des cultures d'un autre microbe : le *Mucor mucedo*, contiennent un facteur stimulant de la même façon la croissance du *B. tuberculeux*.

3° ACTION DES EXTRAITS DE BACTÉRIES (ET DE PROTOZOAIRES) SUR LES PROTOZOAIRES

T. B. ROBERTSON peut cultiver, en 1921, un Infusoire, *Enchelys farcimen* Ehr., dans l'infusion de foin, en présence de produits bactériens. Un groupe de cellules se reproduit mieux qu'une cellule isolée ; par exemple, 2 cellules donnent un nombre de cellules bien supérieur au double du nombre produit par une seule cellule ; ROBERTSON explique ce phénomène en disant que les Infusoires ont dû sécréter dans le milieu une substance stimulant la croissance de nouvelles cellules. FUNK estime que la substance favorisée apportée par ces sécrétions microbiennes est identique à sa vitamine D.

CHAPITRE II

FACTEURS DE CROISSANCE D'ORIGINE VÉGÉTALE

1^o LEUR ACTION SUR LES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS ET LES LEVURES

LINOSSIER⁴, en 1919, voit que *Oidium lactis* donne des cultures plus précoces et plus abondantes, lorsqu'on ajoute au milieu nutritif, composé de sels minéraux : tartrate d'ammonium, glycérine ou alcool, et stérilisé à 130°, dix gouttes de macération de chou tyndallisée. D'autre part, une semence, affaiblie par un long séjour à l'étuve à 35°, ne se développe plus sur un milieu à base de glucose pur, mais donne une végétation abondante, si l'on ajoute au milieu cinq gouttes de macération de chou. Le pouvoir activant n'est pas supprimé par un chauffage de la macération pendant 20 minutes à 130°. LINOSSIER se sert aussi dans ses expériences d'un extrait de raisins secs.

En 1920, LINOSSIER, poursuivant ses recherches, voit que les facteurs stimulants qui existent dans les tissus végétaux (suc, infusion, extrait alcoolique d'un végétal) ne sont pas strictement nécessaires pour la croissance, dans un milieu entièrement composé de substances définies cristallisables, de certains champignons vigoureux : *Oidium lactis*, *Aspergillus niger*, *Penecillium glaucum*, mais que d'autres végétaux inférieurs, levure de bière, *Mycoderma vini* manifestent, en l'absence des facteurs stimulants, un retard de végétation sensible. On peut d'ailleurs, entre ces microbes et les précédents, établir, à cet égard, toute une série d'intermédiaires, sans grande discontinuité.

2° ACTION DES EXTRAITS VÉGÉTAUX SUR LES BACTÉRIES.

DAVIS montre, en 1917, que le B. de Pfeiffer, ensemencé sur son milieu d'élection, la gélose au sang, pousse remarquablement mieux si on ajoute au milieu des fragments stériles de végétaux : les colonies de B. de Pfeiffer sont plus luxuriantes autour des parcelles végétales que sur le reste du milieu, exactement comme GRASSBERGER, plusieurs années auparavant (1), avait attiré l'attention sur le développement plus grand des colonies de B. de Pfeiffer autour des colonies de staphylocoques.

DAVIS, ajoutant d'autres substances végétales aux milieux de culture, constate que la farine de riz ou de froment donne lieu à des cultures plus riches, si elles proviennent de grains ayant germé.

THJÖTTA et AVERY, après avoir établi en 1920-1921 que les facteurs favorisant la culture du B. de Pfeiffer, qui se trouvent dans le sang, sont de deux ordres, l'un désigné comme facteur X et l'autre comme facteur V, comme nous le verrons au chapitre suivant, montrèrent que ce facteur V est fort répandu dans les plantes, par exemple dans la pomme de terre.

KOLLATH confirme les résultats de THJÖTTA et AVERY. L'eau de pomme de terre est 3 ou 4 fois moins riche que le sang en facteur V. Il voit que si l'on incorpore de petits morceaux de pommes de terre à de la gélose dans des boîtes de Pétri, la culture du B. de Pfeiffer pousse autour des fragments de pomme de terre, tandis que le reste de la plaque reste stérile. Dans les cellules intactes (fragments découpés à l'emporte-pièce), le facteur de croissance peut persister et diffuser lentement dans le milieu environnant, tandis qu'en dehors des cellules il est rapidement détruit. Une altération de la pomme de terre, telle que celle que provoque son écrasement, provoque une rapide destruction du facteur V. KOLLATH

1. Voir au chapitre précédent, concernant les facteurs favorisant d'origine bactérienne.

constate que le facteur V, en solution dans la gélose, résiste à l'ébullition pendant au maximum 45 minutes.

KOLLATH trouve le facteur V en abondance dans la banane. Au contraire, le jus de tomates et le suc de citron ajoutés à la gélose donnent des résultats négatifs.

Il constate que le raifort ne contient pas de facteur V mais semble posséder au contraire le facteur X, de sorte que le raifort, inactif par lui-même, permet la culture du B. de Pfeiffer s'il est additionné d'eau de pomme de terre.

Il est nécessaire de signaler ici que KOLLATH, comme RIVERS (cité par KNORR), constate que les facteurs X et V tirés des animaux ou des végétaux supérieurs ne suffisent par pour l'alimentation des bactéries ; ce ne sont probablement que des agents d'excitation de la culture ; la croissance des bactéries exige la présence de substances nutritives proprement dites.

AVERY et MORGAN montrent en 1921-1922 que les facteurs favorisant la culture du B. de Pfeiffer et des bactéries hémophiles, dont on connaît l'existence dans la pomme de terre et la banane stériles non chauffées, existent aussi dans d'autres végétaux tels que le navet jaune et le navet blanc, la carotte, la bette, le panais et la patate. Ces facteurs favorisent la culture non seulement des bactéries hémophiles, mais aussi d'autres bactéries comme le pneumocoque. Ils font plus qu'accélérer la culture de ce microbe, ils la rendent possible dans des cas où l'ensemencement serait trop faible pour permettre le « départ » de la culture.

Une autre action intéressante de ces facteurs consiste à augmenter la zone de tolérance des bactéries à l'égard du pH du milieu, en deçà et au-delà du point optimum. De plus, ces facteurs contenus dans les tissus frais de plantes permettent la vie et la multiplication des bactéries qui ne poussent pas en présence d'oxygène libre.

FILDES, en 1922, indique que la matière colorante du sang peut être remplacée par la pomme de terre pour la culture du

B. de Pfeiffer. L'auteur pense que la pomme de terre doit son action à la présence d'une peroxydase qui facilite le transport de l'oxygène.

GORDON et HINE, FLACK, en 1916, décrivent, sous le nom de « trypagar » (voir la formule à l'Appendice), un milieu de culture gélosé au cœur de veau digéré par la trypsine (d'où son nom) et additionné d'un extrait de farine de pois verts, qui paraît apporter des facteurs favorisants pour la culture du méningocoque. Les auteurs rapportent que la farine de pois agit surtout sur la croissance de la culture, (mais le méningocoque ne survit pas plus de 48 heures sur le trypagar), tandis qu'un extrait de grains de froment, cuits ou crus, agit sur sa vitalité. Le principe actif de la farine de pois est soluble dans l'eau, n'est pas précipité dans la solution aqueuse par l'alcool. Si le milieu est chauffé à l'autoclave après l'addition de la farine de pois, les facteurs favorisants sont détruits.

DAVIS, en 1918, poursuit des recherches sur les facteurs stimulant la culture des microbes suivants : B. typhoïdique, B. du colon, B. diphtérique, streptocoque hémolytique, staphylocoque doré, blastomycètes, *Sporotrichum schenckii*, Streptothrix, B. pyocyanique, B. *prodigiosus*.

Le sang ne contient pas de facteurs favorisant ces microbes, non plus que la farine ordinaire de riz ou de froment. Mais la farine de riz germé ou de blé germé contient des facteurs très favorables à la culture de ces microbes : peut-être proviennent-ils simplement de la solubilisation de l'amidon au cours de la germination.

BROADHURST, en 1921, peut démontrer, sur une vingtaine de cultures de bactéries différentes, vieilles de 3 à 24 semaines, que l'addition d'un extrait de haricot les rajeunit. MACKENZIE, en 1917, avait obtenu des résultats analogues, pour la culture des microbes du groupe typhoïdique-coli, avec un extrait de farine d'arachides.

LEICHTENTRITT et ZIELAKOWSKY constatent, en 1922, que le jus de citron (qui contient la vitamine C antiscorbutique) possède aussi une substance favorisante pour la culture du bacille diphtérique.

HOSOYA et KUROYA étudient, en 1923, le facteur de croissance mis en évidence par TSUKIY en 1922. C'est un extrait de son de riz. Les auteurs japonais constatent que des streptocoques hémolytiques et des pneumocoques poussent sur des milieux sans albumine additionnés de cet extrait, alors qu'ils ne poussent pas sur les mêmes milieux sans albumine, qui suffisent à d'autres bactéries pathogènes, telles que la bactériidie charbonneuse, le vibrion cholérique et le pyocyanique. On pourrait rapprocher ce facteur de la vitamine D de FUNK, car il résiste à un chauffage de 2 heures à 140°, mais il est plus sensible que la vitamine D aux alcalis et il est plus facilement adsorbable.

SCHWARTZMAN étudie, en 1924-1925, le pH qui convient aux cultures, en présence d'extraits de tomates, de plusieurs microbes : B. de Flexner, *B. abortus*, pneumocoque type 2, B. typhoïdique, *Streptococcus viridans*. Il constate que les facteurs de croissance contenus dans les extraits de tomates ont un effet optimum sur la culture de ces bactéries avec des concentrations en ions H qui semblent tout à fait différentes du pH optimum pour leur croissance en milieu ordinaire.

3° ACTION DES EXTRAITS VÉGÉTAUX SUR LES PROTOZOAIRES.

FLATHER, en 1919, n'arrive pas à cultiver dans des milieux aux extraits de riz, décortiqué ou non, des Infusoires (Paramécies) qui poussent bien sur des milieux au lait malté. La moyenne journalière des divisions cellulaires passe de 0,84 à 0,58 dans les milieux au riz entier et à 0,34 dans les milieux au riz glacé. On revient au premier chiffre en ajoutant une goutte de lait malté à une goutte

d'extrait de riz glacé. Le jus d'oranges ajouté au lait malté n'augmente pas le nombre de divisions cellulaires ; ajouté aux extraits de riz, il n'améliore pas leur action. En somme, les extraits végétaux, de riz ou d'oranges, n'ont pas d'action sur le métabolisme de ces protozoaires.

CHAPITRE III

FACTEURS DE CROISSANCE D'ORIGINE ANIMALE EXTRAITS DES TISSUS SAINS

I. — Facteurs extraits du sang.

1^o LEUR ACTION SUR LES BACTÉRIES.

A. — *Bacille de Pfeiffer.*

Les deux facteurs de croissance contenus dans le sang.

Les bactéries hémophiles ne sont-elles que des bactéries sidérophiles ?

En 1892, PFEIFFER montre que le milieu d'élection pour la bactérie qu'il isole de cas de grippe (*Bacillus influenzae*) est un milieu contenant du sang. Le B. de Pfeiffer est resté le type des bactéries hémophiles (1). On a vu, depuis lors, que le B. de Pfeiffer, après plusieurs repiquages, peut réussir à pousser sur des milieux ordinaires dépourvus de sang ; d'autre part, même pour les cultures primaires d'isolement, d'autres substances, par exemple des tissus végétaux frais, peuvent remplacer le sang. Il n'en reste pas moins que le sang contient des principes très favorables à la culture du B. de Pfeiffer et que leur étude a donné lieu à un grand nombre de travaux intéressants que nous allons résumer.

1. Il faut en rapprocher deux bactéries que l'on peut difficilement différencier de lui : le Bacille de Weeks des conjonctivites aiguës, le *Bacillus (haemoglobinophilus) canis* de Friedberger.

PFEIFFER avait montré que le sérum sanguin tout à fait clair, dépourvu d'éléments figurés, ne convient pas à la culture de son bacille, qui, au contraire, pousse bien sur les globules rouges soigneusement lavés. Il pensait que la substance active était l'hémoglobine. Il l'extrayait des globules rouges par congélation, décongélation, agitation dans l'éther, évaporation dans le vide, séparation des stromas par un filtre en terre d'infusoires. Il attribuait, d'après ses expériences, au fer, le rôle essentiel dans l'action de l'hémoglobine. Il rapprochait ce rôle du fer à l'égard des bactéries hémophiles du rôle que jouent les combinaisons ferriques dans la nutrition du *Crenothrix polyspora*. Mais ni PFEIFFER ni aucun autre auteur n'ont pu faire pousser le B. de Pfeiffer sur des milieux contenant des sels ferriques et dépourvus d'hémoglobine.

A partir de 1916-1917, toute une série de travaux montrent l'existence dans le sang des animaux supérieurs de 2 sortes de facteurs favorisant la culture des bactéries hémophiles. Ils attribuent, presque tous, à la suite de PFEIFFER, l'activité de l'un, au moins, de ces facteurs, au fer contenu dans l'hémoglobine.

En 1917, DAVIS démontre l'existence de 2 facteurs pouvant favoriser le développement des bactéries hémophiles, par exemple du B. de Pfeiffer : l'un est l'hémoglobine, l'autre peut être tiré de bactéries d'espèces différentes aussi bien que de divers tissus végétaux ou animaux. Cette seconde substance peut être trouvée, par exemple, dans le B. de Pfeiffer lui-même, si celui-ci est cultivé en même temps qu'une autre espèce de bactérie hémophile. DAVIS suppose que l'hémoglobine agit en fournissant du fer, et que la seconde substance facilite l'assimilation de ce fer.

Extrait globulaire de Legroux. — AGULHON et LEGROUX ont publié, en 1918, une méthode qui permet d'isoler des globules rouges lavés ou du sang complet une solution pratiquement exempte des albumines et de la matière colorante du sang et qui contient le facteur ou l'ensemble des facteurs de nature indéterminée

nécessaires à la culture du B. de Pfeiffer. Cette solution perd ses propriétés par chauffage au-dessus de 100°. Elle peut être filtrée sur papier ou sur bougie.

Voici le procédé de préparation recommandé par les auteurs : ajouter aux globules rouges du sang défibriné 4 volumes d'eau physiologique ; chauffer 15 minutes au bain-marie à 80°, en agitant fréquemment ; filtrer sur papier ou centrifuger. Si l'on n'a pas opéré aseptiquement, filtrer à la bougie Chamberland F. La solution aqueuse obtenue, ajoutée aux milieux de culture usuels à la dose de 5 à 10 %, permet d'obtenir d'abondantes cultures de B. de Pfeiffer. A doses faibles (1 %), on obtient encore des résultats positifs, mais les cultures se développent lentement et sont moins épaisses ; les colonies restent petites.

Les sangs d'oiseaux, d'anguille, de cheval donnent les mêmes résultats.

C'est dans la partie figurée du sang (globules) qu'existent les vitamines. Le sérum n'en renferme pas.

L'hémoglobine n'a aucune action.

LEGROUX donne, en 1920, de nouveaux détails sur son extrait globulaire, dans une publication faite avec MESNARD. Nous donnons ci-dessous *in extenso* une partie de cette note en raison de son importance.

« Les auteurs se sont toujours servis de la méthode d'extraction par l'eau physiologique à 80°, et de la filtration à travers la bougie Chamberland F pour la stérilisation du liquide.

« La préparation de ces extraits globulaires n'est pas favorisée par une concentration saline plus élevée que celle indiquée précédemment (9 0/00), et les quantités de liquide à ajouter aux globules doivent de préférence ne pas être supérieures au double du volume de ceux-ci. Une précaution importante est l'agitation constante pendant toute la durée du chauffage.

« La neutralité de l'eau physiologique destinée à l'extraction doit être déterminée avec soin : les alcalis même à faible dose détruisent les extraits globulaires en 48 heures à froid et en une

minute à 80° ; par contre, l'action des acides forts, 1 pour 10, même à 80°, ne diminue pas sensiblement la valeur activante.

« Les substances actives dialysent à travers une membrane de parchemin et un sac de collodion.

« Les extraits en solution aqueuse de LEGROUX et MESNARD conservent très longtemps leur activité à l'air ou à l'abri de l'air (vide et hydrogène) à la température de 16° à 18° ; après 10 mois, ils activent un milieu à 1 pour 200. Des globules sanguins coagulés par l'alcool, puis séchés et réduits en poudre, contiennent toujours les substances actives que l'on peut reprendre à 80° par l'eau physiologique, mais, après 10 mois, une extraction faite de semblable façon donne un liquide qui n'active plus qu'à 1 pour 50.

« La concentration dans le vide des solutions aqueuses et la dessiccation du dépôt à 65° ne détruisent pas le pouvoir activant : repris par l'eau le dépôt est toujours actif.

« Les extraits globulaires ne sont pas nutritifs par eux-mêmes ; la culture du B. de Pfeiffer y est pratiquement impossible, mais si l'on ajoute à 10 cmc. d'extrait aqueux une trace (1/10 de centimètre cube) de bouillon de viande peptoné, la culture devient possible. Lorsque les auteurs veulent connaître la valeur activante pour la culture du B. de Pfeiffer d'une solution d'extrait, ils notent pour une dose déterminée : 1° la rapidité de l'apparition de la culture à 37° ; 2° l'abondance de cette culture ; 3° surtout la durée de la vitalité du microbe.

« L'adjonction à un milieu usuel de 1/2000 d'extrait aqueux provoque après 6 heures d'étuve une culture de moyenne abondance dont la vitalité est en moyenne de 4 jours ; avec 1/75 d'extrait on obtient une culture abondante dont la vitalité dure 7 jours.

« On considère jusqu'à présent qu'un milieu nutritif liquide, maintenu à la température optima de multiplication bactérienne, est rapidement épuisé par une culture ; les expériences des auteurs les autorisent à rejeter l'hypothèse couramment admise de l'élaboration de « produits empêchants » ; ils croient pouvoir dire que la plupart des milieux (provenant de tissus animaux ou végétaux)

contiennent plus ou moins de substances favorisant la croissance bactérienne (hormones de croissance), d'autant moins qu'ils ont été chauffés à haute température et qu'ils sont plus alcalins, deux conditions qui, nous l'avons vu, détruisent ces substances. Leur altération se produit lentement dans les milieux qui séjournent à 37°, plus lentement encore à température moyenne 16°, 18°; si le milieu est acide ou neutre (au rouge de méthyle), la destruction des facteurs de croissance est presque nulle ».

L'existence de 2 facteurs favorisant le B. de Pfeiffer est confirmée par RIVERS et POOLE, FILDES.

THJÖTTA et AVERY constatent à leur tour, en 1920-1924, que l'on peut distinguer dans le sang deux facteurs favorisant la culture du B de Pfeiffer : ils les appellent facteur X et facteur V. Chacun de ces facteurs est inactif s'il est isolé, et leur association seule est activante. Ces facteurs agissent en rendant possible la culture de B. de Pfeiffer fraîchement isolés qui ne poussent pas sur les milieux ordinaires, en abrégant la durée de l'incubation de la culture, et en prolongeant la vie de cette culture.

Le facteur X est relativement thermostable, mais il ne résiste pas plus de 30 minutes au chauffage à 120°. Il agit à doses infimes : dans les milieux solides, au 1/200.000, et dans les milieux liquides au 1/2.000.000 (FILDES, OLSEN).

Le facteur V est thermolabile, il ne résiste pas plus de 10 minutes à l'ébullition. Il agit à doses plus fortes que le facteur X : dans des dilutions de 1/2.000 à 1/10.000 dans les milieux solides (KOLLATH), et à 1/30.000 dans les milieux liquides (KNORR). En solution aqueuse, il est adsorbé par certains corps tels que le charbon animal. Il présente donc certains caractères qui le rapprochent des vitamines pour animaux supérieurs, particulièrement de la

vitamine C, d'où le nom donné par THJÖTTA et AVERY de substance V. Il traverse la bougie Berkefeld.

Les deux substances X et V existent dans les globules rouges du sang, elles sont strictement intracellulaires et n'existent pas dans le sérum du sang. Le liquide d'ascite ne contient qu'une très petite quantité de facteur X et ne contient pas de quantité mesurable de facteur V. Le sérum frais exerce même une action empêchante sur le facteur V. KNORR a montré qu'un séjour des globules rouges de 3 heures à l'étuve en présence du sérum suffit à rendre le sang impropre à la culture du B. de Pfeiffer (1).

THJÖTTA et AVERY, confirmés par KNORR et par KOLLATH, voient que les facteurs X et V existent non seulement dans le sang mais dans le suc de végétaux supérieurs. Ils voient d'abord que le facteur V est fort répandu chez les végétaux, par exemple dans la pomme de terre, la banane. L'expérience montre en effet que du sang chauffé à l'autoclave, ayant donc perdu son facteur V et ne contenant plus que le facteur X, devenu ainsi inapte à la culture du B. de Pfeiffer, est réactivé, et donne des cultures luxuriantes, s'il est additionné d'eau de macération de pommes de terre ou de certains autres végétaux, ou d'extraits microbiens (eau de levure). Toutes ces substances contiennent donc le facteur V.

KOLLATH essaye de séparer l'un de l'autre les deux facteurs X et V du sang. Il réussit à isoler le facteur X, par la méthode des fortes dilutions, ce facteur pouvant agir encore à doses extrêmement minimes. D'autre part, il obtient le facteur V à l'état de pureté, en l'extrayant de la pomme de terre crue, stérile, au moyen de l'eau distillée. La substance X, présente dans la pomme de terre, se dissout dans l'eau après 5 ou 6 semaines, de sorte que, pratiquement, il ne faut expérimenter qu'avec des extraits de pomme de terre fraîchement préparés, si l'on veut avoir le facteur V à l'état de pureté.

1. Il s'en ensuit que dans les recherches sur les facteurs de croissance contenus dans le sang, il faut toujours se servir de globules rouges soigneusement lavés.

On voit, d'autre part, que si l'on veut rechercher la présence du facteur V dans une substance quelconque, par exemple dans une parcelle végétale, il suffit d'incorporer celle-ci dans un milieu gélosé contenant seulement des traces de sang, c'est-à-dire le facteur X à l'état de pureté, et on incorpore en même temps des parcelles végétales semblables dans de la gélose ordinaire dépourvue de sang. On ensemente l'un et l'autre milieu avec le B. de Pfeiffer. Il ne poussera sur le milieu au sang que si la parcelle ajoutée contient le facteur V.

TINTI, expérimentant en 1925 sur quelques bactéries hémophiles, confirme les recherches de ses prédécesseurs, en particulier de DAVIS. Il apporte des faits curieux sur la différence d'action de la chaleur sur les facteurs de croissance stimulant 3 bactéries hémophiles qu'il considère comme très voisines les unes des autres :

B. de Pfeiffer ;

B. de Bordet ;

B. canis de Friedberger.

La différence d'action de la chaleur sur les facteurs peut permettre de distinguer ces 3 bactéries les unes des autres. Si, par exemple, une bactérie hémophile pousse bien sur gélose au sang non bouillie, si sa culture est vigoureuse après 48 heures, et si sa croissance, au contraire, est plus faible sur gélose au sang bouillie, il s'agit vraisemblablement du *B. canis* de Friedberger. Mais si l'ébullition du milieu de culture rend plus abondante la culture, il s'agit de B. de Pfeiffer ou du B. de Bordet. Ces deux bactéries, à leur tour, peuvent se différencier l'une de l'autre, si l'on observe leur culture sur la gélose au sang bouillie pendant 2 heures. Dans ces conditions, si on obtient une culture, il s'agit vraisemblablement du B. de Bordet et non pas du B. de Pfeiffer.

KOLLATH recherche la nature du principe actif du facteur X contenu dans le sang. Il arrive, comme PFEIFFER, à la conclusion que ce principe actif est lié à la présence du fer, le facteur X ne serait qu'une combinaison ferrique organique. KOLLATH propose

de remplacer la qualification d'hémophiles, pour les bactéries dont le B. de Pfeiffer est le type, par celle de « sidérophiles ».

On a exprimé l'opinion (THJÖTTA et AVERY, KNORR, GEHLEN, TINTI) que l'action du facteur X est d'ordre catalytique. Or la banane contient du fer, elle exerce une action favorisante intense sur la culture du B. de Pfeiffer, mais elle ne révèle aucun pouvoir catalytique. On doit donc admettre que ce n'est pas uniquement une action catalytique qui explique le pouvoir favorisant du facteur X.

PFEIFFER, pour démontrer que le pouvoir favorisant de l'hémoglobine pour son bacille est dû à la présence du fer, fait remarquer que la méthémoglobine favorise également la culture, mais que l'hématoporphyrine, qui est le dérivé sans fer de l'hémoglobine, est entièrement dépourvue d'action. De même, la substance colorante des animaux inférieurs, qui est totalement dépourvue de fer, est inactive à l'égard de la croissance du B. de Pfeiffer.

OLSEN, en 1920, admet que les facteurs favorisant la culture du B. de Pfeiffer doivent leurs propriétés au fer. Quel est le mécanisme de l'action du fer ? Les résultats obtenus avec la méthémoglobine montrent que la propriété de l'hémoglobine de former avec l'oxygène une combinaison instable n'est pas en jeu. Il semble bien, au contraire, que l'action favorisante de l'hémoglobine ou de ses dérivés soit en relation avec la propriété que possèdent ces substances de donner la réaction du gaïac en présence des peroxydes. Cette réaction est, en effet, commune à tous les dérivés de l'hémoglobine qui permettent le développement du B. de Pfeiffer ; elle manque à ceux qui, comme l'hématoporphyrine, se montrent incapables de favoriser la culture de ce microbe. Les essais faits pour remplacer les dérivés de l'hémoglobine par une peroxydase artificielle (WOLFF) sont restés sans résultats.

Certains auteurs nient l'importance du fer de l'hémoglobine pour la culture des bactéries hémophiles. TOKUGANA attribue le rôle favorisant à la globine. Pour OLSEN, en 1920, la culture est

possible, sans symbiose, sur milieu à l'hémoglobine avec globine, mais seulement avec symbiose sur milieu sans globine. JAKOBI et FRANKENTHAL peuvent obtenir des cultures avec l'histidine et la leucine, produits de désintégration de l'hémoglobine. Mais GEHLEN, dans sa thèse, fait remarquer que la verrerie dont on se sert communément dans les laboratoires n'est pas dépourvue de traces de fer. La gélose même peut contenir du fer.

KOLLATH a étudié d'un autre point de vue la part du fer dans l'action des facteurs de croissance des bactéries. Il se reporte à un phénomène relaté plus haut, au Chapitre sur les *Facteurs favorisants d'origine bactérienne*. Nous avons vu que le B. de Pfeiffer peut pousser sur des milieux dépourvus de sang, si ces milieux sontensemencés avec certaines bactéries. KOLLATH, en analysant les cendres d'une quantité de bactéries ayant poussé sur un milieu gélosé contenant de l'oxyde de fer ammoniacal dans la proportion de 1 p. 20.000, constate que les cendres des bactéries qui sont capables de favoriser le B. de Pfeiffer contiennent du fer, tandis que les cendres des bactéries qui ne favorisent pas le B. de Pfeiffer ne contiennent pas de fer. Il y a donc une relation entre le phénomène des « cultures associées » de NEISSER et l'assimilation des sels de fer. KOLLATH se demande ensuite : comment le fer incorporé par les bactéries associées favorise-t-il le B. de Pfeiffer ? Il croit pouvoir répondre que les bactéries associées sont utiles non pendant leur vie, mais lorsqu'elles sont mortes. Le B. de Pfeiffer ne vit pas réellement en symbiose avec les bactéries associées, mais vit en parasite sur leurs produits de désintégration qui se sont dissous dans le milieu nutritif. Il voit ensuite que le B. de Pfeiffer incorpore réellement le fer, c'est bien une bactérie sidérophile. On peut donc définir le facteur X : une combinaison ferrique qui peut être retirée du sang, mais qui peut être également produite par l'activité de certaines bactéries qui sont capables de transformer du fer inorganique.

FILDES, en 1921, étudie la nature de l'action du pigment sanguin

sur la nutrition du B. de Pfeiffer. En soumettant le sang à la digestion pepsique, on obtient quelquefois une précipitation du pigment sanguin sous la forme d'hémine (chlorhydrate d'hématine). Si on jette sur le filtre ce précipité, on sépare l'hémine, qui peut être dissoute dans une solution de soude, et un filtrat, inactif par lui-même sur le B. de Pfeiffer et dont l'auteur ne s'occupe pas, se contentant d'en ajouter à tous les milieux expérimentés. Il constate que la présence du pigment sanguin est indispensable à la culture du B. de Pfeiffer, et son rôle semble lié à son pouvoir de transporter l'oxygène. Il agit comme catalyseur et non comme peroxyde. ABT (1) se demande « si une étude plus approfondie du « second facteur, contenu dans le filtrat de la digestion pepsique, « n'aurait pas conduit l'auteur à modifier les conclusions de son « travail, qui restent très hypothétiques. Ce facteur paraît, malgré « la différence des techniques, se rapprocher des facteurs de croissance de LEGROUX et de ses collaborateurs. »

La part attribuée au fer dans l'action des facteurs de croissance des microbes rend intéressante la recherche de ces facteurs dans la bile. On sait en effet que le foie est un des organes les plus riches en fer, même chez les invertébrés dépourvus d'hémoglobine. Chez les céphalopodes, il en contient, à poids égal, 25 fois plus que le reste du corps (DASTRE et FLORESO). L'action de la bile sur les bactéries a donné lieu à de très nombreux et importants travaux, surtout en France. Nous renvoyons, à ce sujet, à la thèse de A. F. RAMOND.

Nous avons procédé à quelques essais de culture de deux bactéries hémophiles, le B. de Ducrey et le B. de Pfeiffer, sur des milieux à la bile humaine.

Dans un premier cas, la bile est prélevée aseptiquement par M. le Professeur agrégé MOCQUOT au cours d'une intervention chirurgicale sur la vésicule biliaire. Dans un second cas, la bile est obtenue au cours d'une autopsie, par ponction de la vésicule d'une

1. *Bull. Institut Pasteur*, t. 19, n° 16, 30 août 1921, pp. 586-588.

malade décédée d'un cancer du pylore. N'ayant pu faire l'autopsie qu'une trentaine d'heures après le décès, nous avons dû filtrer la bile sur bougie Chamberland L³ avant de l'incorporer au bouillon.

Pour préparer nos milieux de culture, nous ajoutons XX gouttes de bile à 10 cmc. de bouillon nutritif.

Nous ensemençons avec VI gouttes d'une culture de Bacilles de Pfeiffer en bouillon à l'extrait globulaire.

Nous observons, après 24 heures, un léger trouble du bouillon bilié et nous constatons à l'examen microscopique que ce trouble est causé par des B. de Pfeiffer typiques : bâtonnets fins, immobiles, présentant un espace clair en leur partie médiane et se décolorant par la méthode de Gram.

Les jours suivants le trouble du bouillon augmente pour devenir abondant au bout d'une huitaine de jours.

Les résultats ont été les mêmes avec les deux échantillons de bile.

Nous avons essayé en même temps de cultiver sur ces milieux à la bile le B. de Ducrey. Nous avons ajouté à 10 cmc. de bouillon non seulement X gouttes de bile, mais aussi XV gouttes de sérum de cheval. Nous avons ensemencé ce milieu avec une spatule de B. de Ducrey. Dans aucun cas il ne s'est développé de culture.

En résumé, deux spécimens de bile humaine, l'un de bile fraîche, l'autre de bile prélevée à l'autopsie et filtrée, ajoutés à des milieux de culture ordinaires, ont rendu possible la culture du B. de Pfeiffer, mais non celle du B. de Ducrey.

B. — *Autres bactéries pathogènes.*

BEZANÇON, GRIFFON et LE SOURD donnent, dès 1900, la composition de milieux au sang qui permettent la culture du bacille tuberculeux, du gonocoque, du B. de Ducrey, du pneumocoque. Le sang de toutes les espèces de Vertébrés supérieurs contient les facteurs favorables à la culture des microbes hémophiles. Il faut sans doute attribuer à des conditions contingentes les préférences

marquées par les différents auteurs : ainsi, pour l'isolement et la culture du B. de Ducrey, à la même époque, en 1926, P. DURAND préfère le sang de mouton, et NICOLAU et BANCIU le sang humain.

LLOYD trouve en 1916 dans le sang (et aussi dans le lait) des facteurs favorisant la culture du méningocoque. Ces facteurs, d'après cet auteur, sont solubles dans l'eau et dans l'alcool. Ils sont assez thermostables ; ils supportent un chauffage de 45 minutes à 120°. Ils sont adsorbés sur un filtre de papier, mais non pas sur le coton de verre. Après une dizaine de repiquages, le méningocoque peut pousser dans les milieux ordinaires, sans facteurs favorisants.

LLOYD consigne ainsi ses premiers résultats :

Souches	1	2	3	4
Cœur de veau digéré par la trypsine (technique Douglas)....	0	0	0	0
Cœur digéré + Sang 5 %. Clarification par chauffage et centrifugation	+	+	+	+
Cœur digéré + Sang 5 %. Clarification par filtration à travers du papier.....	0	0	0	0

L'activité de l'extrait alcoolique et aqueux, dépourvu de protéine, permet de mettre hors de cause les protéines et montre que les facteurs favorisant la culture proviennent du sang.

LLOYD interprète l'action des facteurs favorisants comme une action catalysante.

COLE et LLOYD ont étudié en 1917 l'action, sur la culture du gonocoque, de facteurs favorisants tirés du sang. Le milieu nutritif qu'ils emploient, et qu'ils appellent « tryptamine », est le produit de la digestion tryptique de la caséine. Ils l'additionnent de sang. Les cultures de gonocoque demandent, pour bien se développer, une concentration en ions H convenable, une grande quantité d'acides aminés libres (1), et deux facteurs de croissance, A et N, (que les

1. Le pouvoir de favoriser les cultures bactériennes a été également attribué aux acides aminés par WEICHARDT, WYON, AYERS et MUDGE. Les expériences de COLE et LLOYD montrent qu'une solution même riche en acides aminés n'est utilisable par le gonocoque qu'en présence des facteurs favorisants.

auteurs appellent « hormones de croissance »). L'un d'eux A, facilement adsorbable, se trouve dans les globules rouges et a la propriété de « faire partir » la culture. L'autre substance N, se trouve dans les tissus ; elle est relativement peu adsorbable et a la propriété de développer une culture secondaire abondante. La substance N se trouve aussi dans les végétaux. On extrait ces deux facteurs de l'albumine par précipitation, mais non en présence de la gélose. La filtration à travers le papier arrête complètement le premier facteur de croissance et on a des raisons de supposer que ce facteur provenant des globules rouges est facilement adsorbé par l'albumine. Le deuxième facteur, qui provient des tissus, ressemble au facteur appelé vitamine D par FUNK.

Deux substances, différentes en certains points des deux substances de COLE et LLOYD, de celles de DAVIS et de celles de THJÖTTA et DAVIS, ont également été décrites en 1924 par JENKINS, dans le sérum du bœuf, du mouton, du lapin, de l'homme. Il les appelle G_1 et G_2 , car il les considère comme nécessaires à la culture du gonocoque : tous les deux à la fois pour les cultures primaires des germes fraîchement isolés, le second, G_2 , suffisant à lui seul pour les souches repiquées au laboratoire. G_1 est détruit à 65° , G_2 à 100° . Le caractère de la résistance à la chaleur suffit à différencier les corps G_1 et G_2 de JENKINS à la fois des corps A et N de COLE et LLOYD et des corps V et X de THJÖTTA et AVERY.

STEFANOPOULO prépare, en 1921, un extrait de globules rouges de cheval, à partir du caillot qui est broyé à travers une toile métallique fine et étendu de 2 fois son volume d'eau salée à 8 0/00. La dilution est chauffée 15 minutes à 80° , filtrée sur papier Chardin, puis sur bougie Chamberland. Dans cet extrait stérile de globules rouges, sous couche d'huile de vaseline, à 28° , le *Spirochaeta icterohemorrhagiae* donne une culture active.

Ascite artificielle de Legroux. — LEGROUX décrit, en 1920, un milieu de culture très facile à préparer, qui contient les facteurs nécessaires à la culture du méningocoque : c'est une simple dilu-

tion de sérum de cheval (ou d'un autre animal) dans l'eau distillée et additionnée de formol, puis autoclavée. Nous avons vu que le liquide d'ascite contient, d'après THJÖTTA et AVERY, très peu de facteur X et ne contient pas de facteur V, et que d'autre part le sérum ne contient ni facteur X ni facteur V.

2° ACTION SUR LES PROTOZOAIRES DES FACTEURS CONTENUS DANS LE SANG.

Les milieux au sang ont été employés avec succès pour la culture de protozoaires parasites. L. ROGERS obtient des cultures de *Leishmania donovani* sur du sang de rate, du sang humain ou du sang de lapin, rendu incoagulable par le citrate de soude. Onensemence avec le produit de ponction de la rate contenant des *Leishmania* et on porte à l'étude à 22°.

NOVY et MAC NEAL cultivent les trypanosomes dans l'eau de condensation de la gélose nutritive au sang en tubes inclinés.

Ch. NICOLLE cultive les *Leishmania* sur le milieu de Novy-Mac Neal, qu'il simplifie, en supprimant la viande et les peptones (Milieu N N N) :

Faire macérer de la gélose une nuit.

Jeter l'eau de lavage, peser la gélose et mêler :

Gélose.....	14 gr.
Na Cl.....	6 gr.
Eau distillée	900 cmc.

Faire fondre en tubes, stériliser à l'autoclave.

Ajouter dans chaque tube, à la gélose fondue (48°-52°), de 1/4 à 1/5 de son volume de sang de lapin.

Incliner. Ensemencer dans l'eau de condensation.

LEGROUX et JIMENEZ, étudiant en 1921 les facteurs qui peuvent favoriser la culture, en milieux artificiels au sang, de Protozoaires comme les *Leishmania*, constatent que les hématies bien lavées ne conviennent pas ; le sérum donne une culture de moyenne abon-

dance. Ayant remarqué que les meilleures cultures proviennent de sérums de sang défibriné, les auteurs ont pensé que des facteurs favorisants peuvent provenir des globules blancs détruits par le défibrinage. Ils ont donc préparé des extraits de moelle osseuse rouge et de rate, et ils ont vu que des extraits de ces tissus, filtrés à travers la bougie Chamberland F. contiennent des facteurs stimulants excellents pour la culture des *Leishmania*, tandis que des extraits d'autres tissus n'en contiennent pas.

Les extraits sont obtenus par macération à la température de 75°. Au-dessus de cette température, les facteurs de croissance sont altérés et ils sont détruits à 90°-100°.

LEGROUX et JIMENEZ rapprochent ces extraits de leucocytes de l'extrait globulaire que LEGROUX emploie pour la culture du B. de Pfeiffer. Mais ici il manque l'équivalent des substances alimentaires qu'apporte le bouillon de viande nutritif pour la culture des Bactéries.

II. — Facteurs extraits des tissus animaux autres que le sang.

1° LEUR ACTION SUR LES BACTÉRIES.

Facteurs de croissance tirés de l'œuf.

Dès 1896, CALPADI a employé des milieux à l'œuf pour la culture du bacille tuberculeux, mais c'est depuis les travaux de DORSET (1902-1903) que les milieux à l'œuf sont employés pour la culture du bacille tuberculeux.

SACQUÉPÉE et DELATER ont conseillé l'emploi d'un milieu appelé « albumine à la soude » tiré du blanc d'œuf.

BESREDKA et JUPILLE dérivent en 1913 un bouillon à l'œuf ainsi composé :

A. Sergent

Blanc d'œuf (solution au 1/10).....	4 p.
Jaune d'œuf (solution au 1/10).....	1 p.
Bouillon ordinaire.....	5 p.

qui constitue un excellent milieu de culture pour le pneumocoque, le streptocoque, le méningocoque, le gonocoque, le B. de Bordet.

L'année suivante ils donnent la formule du même milieu gélifié par la gélose.

BESREDKA décrit en 1921 un milieu au jaune d'œuf, sans viande, ni peptone, ni sel, ni glycérine, qui contient des facteurs permettant la culture du bacille tuberculeux et la production commode de l'antigène.

En 1925, LE SOUDIER et VERGE indiquent la composition d'un milieu au blanc d'œuf, soigneusement débarrassé du jaune et glycérimé, qui contient les facteurs nécessaires à la culture du gonocoque, du méningocoque et du bacille tuberculeux, mais qui ne contient pas les facteurs nécessaires à la culture du B. de Johne.

En 1925, HABABOU-SALA montre que le milieu à l'œuf de BESREDKA (bouillon ordinaire, additionné de 1/4 de milieu à l'œuf de BESREDKA et glycérimé à 5 %), contient les facteurs favorables à la culture et à la longue conservation du B. de Ducrey (de 20 jours à 2 mois).

Facteurs de croissance tirés de la caséine.

En 1920, MUELLER étudie, dans des substances d'origine animale, en particulier dans la caséine, des principes favorisant le métabolisme du streptocoque hémolytique. Il croit pouvoir les rattacher à la présence d'un nouvel acide aminé. Il peut séparer dans un hydrolysât de caséine 2 substances, « x » et « y », cette dernière étant reconnue comme un nouvel acide aminé contenant du soufre : $C_9 \cdot H_{11} \cdot SNO_2$.

FREEDMAN et FUNK confirment en partie, en 1922, les résultats de MUELLER, mais traitent différemment la question. Ils ont voulu voir si le facteur actif de la caséine appartient à la molécule d'albumine. De la caséine soigneusement purifiée est mise en solution, sous forme d'un sel sodique, agitée avec de la terre à foulon et récupérée par précipitation. On constate que la caséine est alors devenue inactive, tandis que l'on peut retirer de la terre à foulon la substance active. Un certain nombre d'albuminoïdes donnent les mêmes résultats, tandis que d'autres donnent des résultats négatifs. Il est possible que la substance favorisant la croissance des bactéries ne soit, dans les cas positifs, comme celui de la caséine, qu'une impureté. FUNK rapproche cette substance favorisante de la caséine de sa vitamine D.

Facteurs de croissance tirés de la sécrétion nasale.

SHEARER décèle en 1917 l'existence, dans la sécrétion nasale, d'un facteur favorisant la culture du méningocoque, du pneumocoque, du bacille typhoïdique, du bacille du colon et de diverses bactéries pathogènes. Il estime que ce facteur n'agit pas en tant que substance nutritive, mais comme un catalyseur. Il est soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther. Il résiste 12 heures à l'ébullition avec des acides forts. Le liquide cébrospinal est encore plus riche que la sécrétion nasale en facteurs favorisant le méningocoque. Cette propriété expliquerait la culture rapide du méningocoque dans les méninges. Des parcelles de cerveau ou de méninges n'ont aucune action favorable sur le développement des méningocoques.

Facteurs de croissance tirés de différents organes et tissus.

TAROZZI montre que l'adjonction d'organes parenchymateux animaux frais permet la culture des bactéries anaérobies dans des milieux ordinaires.

En 1911, NOGUCHI emploie, pour la culture pure du *Treponema pallidum*, de petits fragments de tissu stérile de testicule. Ce tissu agit probablement par les facteurs favorisants qu'il fournit au milieu nutritif et en assurant l'anaérobiose.

Il est probable que la propriété que possèdent des fragments de tissus animaux (ou végétaux [WRZOZEK]) de permettre, dans un milieu nutritif ordinaire, la culture de bactéries anaérobies, tient à la fois à leur pouvoir réducteur, et aux facteurs favorisants qu'ils contiennent.

BOYER décrit en 1918, comme milieu de culture particulièrement adapté au développement du streptocoque pyogène, un extrait acide d'os finement pulvérisés.

KLIGLER, en 1919, constate que la culture de nombreuses bactéries pathogènes : gonocoque, méningocoque, pneumocoque, streptocoque hémolytique, diphtérique, B. de la coqueluche, B. de Pfeiffer, est favorablement influencée par l'addition de petites quantités d'extraits de tissus animaux : le cœur du bœuf, des tissus de lapin ou de chat, les sécrétions nasales humaines. En ce qui concerne les sécrétions nasales, il confirme pleinement les travaux de SHEARER. La salive n'est pas activante. La muqueuse de divers organes : rate, foie, rein est relativement riche en substances favorisantes. Le muscle en est pauvre. Ces facteurs stimulants abrègent la période d'incubation ou « retard initial » des cultures. Ces substances favorisantes sont solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool-éther.

En 1920, LEGROUX et MESNARD, dans la note où ils précisent les caractères de l'« extrait globulaire » qui renferme des facteurs favorisants pour la culture du B. de Pfeiffer, indiquent la présence de ces facteurs : en grande quantité dans la pulpe de rein, de cœur, de foie, dans la bile ; en très petite quantité dans le liquide d'ascite, dans le liquide placentaire, dans le sérum. Ils constatent leur absence de la chair musculaire.

FUJITA, en 1925, étudiant l'action des glandes à sécrétion interne sur le développement d'une bactérie, le B. du colon, ne constate une action stimulatrice nette qu'avec l'extrait du lobe postérieur de l'hypophyse. L'extrait de thymus et l'insuline semblent sans influence. L'extrait de surrénale et l'extrait de thyroïde exercent une action inhibitrice.

Facteurs de croissance et acides aminés.

HUNTOON, s'inspirant des travaux sur les facteurs stimulant les cultures microbiennes, donne, en 1918, quelques formules de milieux préparés en mêlant les matières nutritives aux colloïdes, gélose et gélatine, avant tout chauffage, et en prenant soin de ne pas dépasser la température de l'ébullition et de ne pas filtrer sur l'ouate ou le papier. Milieux à l'œuf : pour le méningocoque et le gonocoque ; milieu au sang laqué pour le streptocoque ; milieu aux acides aminés pour le B. tuberculeux.

En 1919, DAVIS et FERRY concluent de leurs recherches que le bacille diphtérique a besoin pour sa culture et la production de sa toxine, non seulement de facteurs activants, mais d'acides aminés bien déterminés.

BUNKER, en 1919, étudie les rapports qui peuvent exister entre la croissance du B. diphtérique, et la sécrétion de sa toxine, d'une part, et les facteurs accessoires contenus dans les milieux nutritifs. Il prépare 4 sortes d'extraits avec la peptone de Witte :

1. Insoluble dans l'eau.
2. Soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool à 50 %.
3. Soluble dans l'alcool à 50 %, insoluble dans l'alcool à 80 %.
4. Soluble dans l'alcool à 80 %.

L'extrait n° 3 régent la formation de la toxine, l'extrait n° 4 la prolifération.

2° ACTION DES FACTEURS EXTRAITS DES TISSUS ANIMAUX,
AUTRES QUE LE SANG, SUR LES PROTOZOAIRES.

CALKINS et EDDY, en 1917, essayant de cultiver des Paramécies (*Paramaecium aurelia*) sur de l'infusion de foin ou de la farine cuite, ajoutent au milieu, pour l'activer, un extrait de pancréas. Le résultat ne paraît pas être favorable.

CHAMBERS, en 1919, reprenant des expériences de SHUMWAY de 1917, voit que des extraits de glande surrénale et de glande pituitaire, ajoutés à l'infusion de foin, ont, à dose convenable, une action stimulante sur les divisions cellulaires d'un Infusoire (*Paramaecium caudatum*). Ajoutés à du lait, seul l'extrait surrénal agit, l'extrait hypophysaire n'a pas d'action favorisante.

FLATHER obtient, en 1919, de meilleurs résultats dans la culture d'une Paramécie dans l'eau de riz, qu'elle active avec du lait malté. Elle emploie comme mesure de l'activité cellulaire le nombre des divisions cellulaires observées en un temps donné.

PETERS, en 1920, peut cultiver le *Colpidium colpoda* dans une solution de sels additionnés de sels aminés, ou même sans acides aminés. FUNK fait remarquer que dans de pareilles expériences il est essentiel d'être sûr de l'absence de facteurs favorisants dans les substances nutritives employées.

CHAPITRE IV

FACTEURS DE CROISSANCE EXTRAITS DU SANG DE MALADES OU D'HUMEURS PATHOLOGIQUES

Les facteurs de la croissance des microbes, qui existent normalement dans l'organisme des sujets sains, subissent-ils quelque modification dans les humeurs des malades ? On peut chercher à répondre à cette question en considérant d'abord l'action, sur la nutrition des microbes, du sang de malades qui ont eux-mêmes une nutrition déficiente, par carence de vitamines. Nous étudierons ensuite les facteurs de croissance pour microbes qui existent dans le sang et les sérosités de malades atteints de lésions organiques.

1. — FACTEURS DE CROISSANCE POUR LES MICROBES DANS LE SANG DE SUJETS AVITAMINÉS

AVITAMINOSE B.

Le sang des oiseaux sains contient, comme le sang des mammifères, des facteurs favorisant la croissance du B. de Pfeiffer. Des expériences de THJÖTTA, en 1924, ont pour objet de déterminer si le sang de pigeons ou de poules rendus polynévritiques contient encore ces facteurs de croissance. Des pigeons et des poules sont nourris avec des aliments chauffés à 130°, c'est-à-dire dépourvus de vitamine B. Ils ne tardent pas à montrer des signes de polynévrite et finissent par succomber. Le sang des pigeons et des poules polynévritiques est prélevé aux divers moments de la maladie et

mêlé à des milieux ordinaires que l'on ensemence avec le B. de Pfeiffer. Dans tous les essais, le B. de Pfeiffer a poussé aussi bien que sur les milieux au sang normal. On peut donc conclure que dans la polynévrite due à l'avitaminose B (béribéri) le sang contient les mêmes facteurs de croissance que le sang des sujets normaux.

Après THJÖTTA, KOLLATH et LEICHTENTRITT font les mêmes expériences sur des pigeons soumis à un régime au riz décortiqué et à l'eau, et qui présentent, après une incubation de 21 à 28 jours, les symptômes d'une polynévrite béribérique. Ils constatent que dans le sang de pigeons béribériques, prélevé à la veine de l'aile, les facteurs de croissance des microbes ne sont pas ou sont à peine modifiés. Ils font la curieuse observation suivante : le sang pris dans le cœur, une ou deux heures après la mort du pigeon, provoque une culture plus abondante que le sang pris avant la mort et même que le sang de pigeons sains.

En résumé, pas de modification des facteurs favorisant la croissance des microbes, dans le sang de sujets atteints d'avitaminose B, ou béribéri.

AVITAMINOSE C.

En 1925, KOLLATH et LEICHTENTRITT entreprennent des recherches sur les facteurs favorisant la croissance du B. de Pfeiffer que contient le sang de cobayes avitaminés, scorbutiques. Ils soumettent plusieurs séries de cobayes, de 200 à 500 grammes, à un régime donnant le scorbut : avoine stérile et lait sec stérile, chauffés tous deux à 160° pendant 2 heures. Les animaux sont gardés dans des cages isolées, sans fourrage. Leur sang est prélevé par ponction du cœur ; en raison de la faiblesse des animaux avitaminés, ce prélèvement relativement copieux entraîne une mortalité de 70 % de l'effectif. Le sang prélevé est dilué dans l'eau distillée stérile dans la proportion de 0 cmc. 5 de sang pour 4 cmc. 5 d'eau. Cette dilution au 1/10^e de sang est mêlée à la pipette, aux doses de

0 cme. 0,05-0,1-0,2 - 0,4-0,8 et 1, 6 à 10 cme. de gélose nutritive à 2 % sans peptone. On obtient ainsi des dilutions de sang variant de 1/2000 à 1/62,5. Une partie de la dilution de sang au 1/10^e est employée immédiatement ; l'autre partie est conservée 3 heures à la glacière, pour obtenir une meilleure hémolyse. Le sang est soigneusement mêlé à la gélose et les tubes sont immergés une minute dans l'eau chaude (formation de méthémoglobine) puis leur contenu est versé dans des boîtes de Pétri. Trois heures plus tard, on ensemence, par stries, sur la moitié de chaque boîte, une souche de B. de Pfeiffer qui, en culture, présente régulièrement une forme coccobacillaire. Au bout de 24 heures, on fait des préparations microscopiques, et on ensemence, sur la 2^e moitié de la plaque, une anse de culture prélevée sur la 1^{re} moitié. On répète cette manipulation 6 jours de suite, de sorte que finalement on a 6 préparations de la 1^{re} génération montrant l'évolution des formes bactériennes au cours des 6 premiers jours, tandis que l'on n'a, de chacune des générations subséquentes, qu'une préparation faite à la 24^e heure. Malheureusement, ces ouvertures fréquentes de boîtes amènent de nombreuses contaminations par les germes de l'air.

Les auteurs constatent les résultats suivants : le sang des cobayes légèrement malades (préscorbut) donne des cultures du B. de Pfeiffer légèrement moins abondantes que les cultures témoins, avec des formes isolées de dégénérescence. Le sang d'animaux gravement malades (scorbut déclaré) donne des cultures beaucoup moins riches que les cultures témoins et les formes de dégénérescence sont très nombreuses. On observe le phénomène inverse : si les animaux scorbutiques guérissent, on obtient, avec leur sang, une intensité de culture et des formes bactériennes de nouveau normales.

Les auteurs ont procédé, à titre de contrôle, à l'expérience suivante : Le sang de cobayes soumis à un jeûne sévère conserve tous ses facteurs de croissance pour les microbes : les cultures sont aussi abondantes que dans les tubes au sang normal, et elles ne renferment pas de formes de dégénérescence.

Les auteurs ont obtenu une confirmation de ces données expérimentales dans une observation clinique. Ils prélèvent du sang à un enfant atteint d'une forme grave de scorbut infantile (maladie de Barlow) et l'utilisent pour la préparation de milieux de culture, selon la technique employée pour le sang de cobaye. Du sang d'un enfant sain de même âge fournit des témoins. Tandis que le sang humain normal donne une culture typique, les auteurs n'obtiennent avec le sang de l'enfant malade que des cultures tellement chétives, qu'à la première génération les colonies sont à peine visibles à l'œil nu ; au microscope on ne voit presque pas de formes normales, les bacilles sont pâles et gonflés.

Les auteurs concluent de leurs expériences que la modification des facteurs de croissance pour les microbes, qui s'opère dans le sang des scorbutiques, est due à une substance thermolabile, ressemblant à un ferment, dont la présence dans le sang est liée à l'état d'avitaminose. Cette substance n'exerce son action destructive sur le facteur de croissance des microbes que dans une suspension aqueuse de globules rouges.

En résumé, l'addition de sang provenant de sujets atteints d'avitaminose C, ou scorbut, ne produit pas, sur les milieux de culture, l'effet favorable à la culture du B. de Pfeiffer que produit l'addition de sang normal. On peut émettre aussi bien l'hypothèse de la formation d'une substance empêchante pour le facteur que celle de la disparition de ce facteur.

LEICHTENTRITT et ZWEIG rapportent, en 1924, les résultats de leurs essais de culture du B. diphtérique sur des milieux préparés avec le sang d'enfants atteints d'œdèmes corrélatifs d'une nutrition très défectueuse. Ces cultures présentent de nombreuses formes de dégénérescence : bacilles très longs, renflés, en massue. Les formes bacillaires redeviennent normales lorsque les enfants guérissent. On note que les modifications des facteurs de croissance ne présentent aucun rapport avec le mode et le temps de coagulation du caillot sanguin, ni avec sa teneur en eau ou en albumine.

En même temps, LEICHTENTRITT et ZWEIG recherchent les facteurs de croissance contenus dans le sang d'enfants atteints de lésions organiques sans troubles de la nutrition proprement dits : cardiopathies, néphrites, tuberculose ; tous ces enfants présentant des œdèmes. Sur les milieux de culture additionnés du sang de ces divers malades, le *B. diphtérique* croît normalement.

En résumé, certaines avitaminoses modifient la teneur du sang des malades en facteurs de croissance pour les microbes. Les dernières observations citées montrent que des affections autres que les avitaminoses : cardiopathies, néphrites, etc..., ne semblent pas modifier les facteurs de croissance. C'est la question que nous avons étudiée expérimentalement et que nous allons considérer maintenant.

II. — FACTEURS DE CROISSANCE POUR LES MICROBES DANS LE SANG OÙ LES HUMEURS DE MALADES ATTEINTS DE LÉSIONS ORGANIQUES

Les expériences dont l'exposé suit ont eu pour objet de chercher à voir si les facteurs de croissance qui existent dans le sang de sujets sains existent encore dans le sang de sujets malades : cardiaques, néphritiques, diabétiques et ictériques. Nous verrons qu'on les y retrouve.

Nous avons ensuite essayé d'obtenir quelques précisions sur les conditions dans lesquelles les facteurs de croissance passent du sang dans les liquides épanchés dans les grandes séreuses au cours de divers états pathologiques : liquide d'ascite, liquide de pleurésie. Nous verrons que l'action, sur les microbes, des facteurs de croissance contenus dans les sérosités pathologiques varie non seulement avec chaque sérosité, mais aussi avec chaque souche de microbe que l'on essaie de cultiver. Une première sérosité peut être favorable à la souche A et défavorable aux souches B et C, une deuxième favorable à la souche B et défavorable à A et à C, une troisième favorable aux trois souches, etc... On ne peut donc pas

dire par exemple qu'un liquide d'ascite est favorable ou défavorable à la culture du Gonocoque : il peut être favorable à la culture de certaines souches et défavorable à celle d'autres souches, et l'action d'autres liquides d'ascite ne sera pas superposable à la sienne. En somme, l'action des facteurs de croissance dépend non seulement du terrain mais de la graine.

TECHNIQUE DES EXPÉRIENCES. — Pour obtenir des résultats concluants, il importait d'utiliser, dans les expériences, les bactéries qui sont le plus difficiles à cultiver sur les milieux artificiels. C'est pour cette raison que nous avons choisi, pour l'étude des milieux au sang, celle des bactéries hémophiles qui se montre la plus rebelle à l'acclimatement aux milieux ordinaires : le Bacille de Ducrey. On a bien montré récemment (NICOLAU et BANCIV) que certaines souches de B. de Ducrey se sont accoutumées à la vie sur les milieux ordinaires ; mais la plupart des souches conservées dans les laboratoires exigent toujours la présence de facteurs de croissance dans leurs milieux.

Pour l'étude des sérosités pathologiques, nous nous sommes servi du Gonocoque, qui, classiquement, est cultivé sur ces milieux.

Les souches de Bacille de Ducrey et de Gonocoque que nous avons utilisées dans toutes nos expériences proviennent de la collection de l'Institut Pasteur et ont été mises obligeamment à notre disposition par Mlle Jupille.

Pour la préparation de nos milieux de culture, nous avons toujours suivi la même technique :

Nous avons employé la gélose nutritive, soit la gélose en tube incliné, à la surface de laquelle nous étalions IV à V gouttes de sang, soit la gélose en culot. Nous faisons fondre celle-ci et la laissons refroidir jusqu'à la température de 45°. Nous ajoutons à ce moment XXV gouttes du liquide pathologique que nous avons recueilli le matin même, provenant de malades hospitalisés dans le service de notre Maître, M. le Professeur LEMIERRE.

Nous retirons le sang stérilement par ponction veineuse au pli

du coude, et nous le recueillons dans de petits ballons de verre contenant des perles de verre qui nous permettent de défibriner immédiatement le sang.

Les liquides pleuraux obtenus par ponction exploratrice sont recueillis d'une façon identique dans un ballon de verre à perles ; quant aux ascites, la quantité de fibrine étant minime, nous versons directement dans un tube à essai stérile le liquide prélevé par ponction exploratrice. Nous ne nous sommes jamais servi de trocart.

Ayant besoin d'une faible quantité de liquide pour nos cultures nous avons fait tous nos prélèvements avec des seringues de 20 cmc.

Dans toutes les expériences, les règles suivantes ont été observées :

1^o Nous avons toujours fait nos ensemencements quelques heures après le prélèvement ;

2^o Nous avons toujours comparé nos résultats avec des témoins qui étaient :

Pour le bacille de Ducrey, des cultures de ce bacille sur sang d'animaux ou d'homme sains ;

Pour le Gonocoque, des cultures de ce bacille sur le « liquide d'ascite artificielle » de LEGROUX.

3^o Les recherches sur la teneur du sang en urée, en glucose ou en pigments biliaires, ainsi que les formules des liquides pleuraux ou péritonéaux ont toujours été faites le jour même du prélèvement.

4^o Nous nous sommes toujours servi des mêmes souches tant pour le bacille de Ducrey que pour le Gonocoque.

5^o A part quelques rares exceptions que nous signalons au passage, nous avons toujours préparé nos milieux de culture en incorporant XXV gouttes de sang ou de sérosité à 40 cmc. de bouillon gélosé.

6^o Les tubes ensemencés avec le Gonocoque ont été placés à l'étuve à 37°, les tubes ensemencés avec le B. de Ducrey, à l'étuve à 30°.

7^o Un tube contenant le liquide à étudier était toujours placé à l'étuve à 37° pendant 24 heures, pour être assuré de sa stérilité.

1^o Facteurs de croissance des bactéries dans des sangs pathologiques.

Nous avons essayé de cultiver le B. de Ducrey sur du sang de malades atteints de maladie mitrale, d'insuffisance aortique, de néphrite azotémique, de diabète, d'ictère catarrhal et de cancer des voies biliaires. Témoins : cultures du même bacille sur sang d'hommes sains et d'animaux sains.

A. — EXISTENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE DES BACTÉRIES DANS LE SANG DE MALADES ATTEINTS DE LÉSIONS ORIFICIELLES DU CŒUR.

OBS. I. — *Maladie mitrale.*

Albert H..., âgé de 26 ans, magasinier, entre le 23 mai 1918 dans le service du professeur LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour dyspnée d'effort et palpitations surtout nocturnes. Ces troubles fonctionnels datent déjà de trois ans environ, et le malade s'était fait hospitaliser dans le service, en 1925, pour des accidents identiques.

Dans les antécédents personnels du malade, on relève, dans sa jeunesse, des maladies éruptives : rougeole, scarlatine, varicelle et une crise de rhumatisme articulaire aigu en 1920, avec atteinte polyarticulaire : les articulations des chevilles, des genoux et scapulo-humérales sont prises. Les douleurs et les gonflements articulaires auraient disparu complètement un mois après un traitement salicylé.

Les signes physiques sont très nets et caractéristiques d'une maladie mitrale :

La palpation permet de sentir le frémissement cataire présystolique, surtout net en décubitus latéral gauche.

A l'auscultation, on entend, à la pointe, un souffle systolique se propageant vers l'aisselle, et un roulement diastolique, tandis qu'à la base on perçoit très nettement un dédoublement du deuxième bruit.

Le pouls est rapide, petit, irrégulier ; 96 pulsations.

La tension artérielle, difficile à prendre, est de 18-6 (Pachon).

Le foie n'est ni hypertrophié ni douloureux.

Le résultat de l'examen des autres appareils reste négatif.

Urines : ni albumine, ni sucre, ni urobiline.

Urée sanguine : 0 gr. 34.

Le 8 juin, nous préparons, à 14 heures, notre milieu de culture avec le sang du malade, et, à 16 heures, nous ensemençons largement deux tubes avec une spatule de platine chargée d'une culture de 8 jours de bacille de Ducrey. Nous mettons les tubes à l'étuve à 30°.

Le lendemain 9 juin, deux ou trois petites colonies arrondies isolées, apparaissent sur le milieu de culture.

Le surlendemain, 10 juin, nous constatons, dans les deux tubes, de nombreuses petites colonies rondes, saillantes, grisâtres, opaques isolées.

Nous en prélevons une parcelle pour l'examen microscopique. L'émulsion de la colonie, dans une gouttelette d'eau déposée sur une lame, présente une certaine difficulté qui est un caractère bien connu du B. de Ducrey.

La coloration simple au bleu de méthylène et la coloration par la méthode de Gram montrent un B. de Ducrey typique, épais, court, trapu, disposé en courte chaînette et qui est décoloré par la méthode de Gram.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans le sang d'un malade atteint de maladie mitrale.

OBS. II. — *Insuffisance aortique.*

Eugène B..., âgé de 36 ans, peintre en bâtiment, entre le 1^{er} mai 1928 dans le service du professeur LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour essoufflement, dyspnée d'effort et douleurs dans l'hypochondre droit. Ces accidents remontent à un an environ.

En juillet 1927, le malade présente de la dyspnée d'effort à la suite d'une longue marche ou d'une fatigue. Un médecin consulté constate un double souffle d'insuffisance aortique avec abaissement de la pointe du cœur et hypertrophie du cœur. Le malade avoue alors avoir eu un chancre de la verge dix ans auparavant, en 1917, et n'avoir pas suivi de traitement spécifique. Il entre alors à Lariboisière le 9 août 1927. Il est traité pour sa cardiopathie, et une réaction de Bordet-Wassermann positive fait instituer un traitement spécifique. Il reçoit,

pendant son séjour à l'hôpital, trente injections de cyanure de mercure puis, à sa sortie de Lariboisière, on lui continue son traitement par des injections de sulfarsénol et de sels de bismuth.

A l'examen de l'appareil cardiaque on note, à la palpation et à la percussion, l'abaissement de la pointe dans le 6^e espace intercostal, un peu en dehors de la ligne mamelonnaire, et une matité cardiaque élargie, dépassant le bord droit du sternum.

A l'auscultation, on perçoit un double souffle de la base : un souffle diastolique, rude et râpeux, siégeant au 2^e espace intercostal droit du sternum, et un souffle systolique moins fort, localisé à la pointe et ne se propageant pas.

Les artères sont dures et scléreuses. Le pouls est à 100.

T. A. : 15-7 1/2 (Pachon).

Le foie est volumineux, dépassant de trois travers de doigt le rebord costal et, de plus, il est très douloureux.

La rate est normale.

L'examen de l'appareil pulmonaire décèle quelques petits râles humides aux deux bases.

Système nerveux normal, aucun signe de syphilis nerveuse. Pas de signe d'Argyll-Robertson.

Examen des urines : ni albumine ni sucre ; traces d'urobiline.

La réaction de Bordet-Wassermann reste toujours fortement positive.

Le 8 mai 1928, dans la matinée, nous prélevons 20 cmc. de sang du malade. Nous défibrinons ce sang et le répartissons en deux tubes.

Le sang du premier tube est mélangé à de la gélose fondue, dans la proportion de XXV gouttes de sang pour 10 cmc. de gélose. Nous répartissons le sang de l'autre tube sur de la gélose inclinée, à raison de IV à V gouttes de sang par tube.

Nous ensemençons tous les tubes en même temps avec une culture de B. de Ducrey et nous constatons, le 10 mai, que le B. de Ducrey a bien poussé dans les premiers tubes de gélose mélangée à XXV gouttes de sang, tandis que, dans les seconds, nous trouvons seulement quelques colonies arrondies, isolées. L'examen microscopique confirme les résultats de l'examen macroscopique.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans le sang d'un malade atteint d'insuffisance aortique.

B. — EXISTENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE DES BACTÉRIES
DANS LE SANG DE MALADES BRIGHTIQUES.

Nous avons voulu voir si le sang de malades azotémiques est aussi favorable que le sang humain normal à la culture des bactéries (1).

OBS. III. — *Néphrite chronique azotémique.*

Henri D..., âgé de 30 ans, chauffeur mécanicien, entre dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour douleurs lombaires avec myalgies, accompagnées d'une faiblesse extrême, de lassitude et d'une incapacité complète de travail. Ces accidents datent de trois mois et ont eu des alternatives d'aggravation et de rémission ; quelques jours avant son hospitalisation, le malade a souffert de vertiges, de troubles transitoires de la vue, de polyurie et de pollakiurie nocturne.

A l'examen, on constate une grande pâleur, une anémie. Formule leucocytaire : 2.860.000 globules rouges et 4.500 globules blancs. On ne trouve pas d'œdème.

L'examen des différents appareils donne des résultats négatifs :

Le cœur est normal.

T. A. : 14-8 (Vaquez).

Le poulx est à 90, bien frappé.

Mais l'examen des urines, indiquant 1 gr. d'albumine, révèle une lésion rénale confirmée par le dosage de l'urée sanguine : 2 gr. 50 au moment de l'entrée du malade dans le service.

Malgré le régime déchloruré végétarien auquel est soumis le malade, et les 0 gr. 30 de poudre de scille qu'il absorbe quotidiennement, la quantité d'urée sanguine augmente et passe le 20 avril, neuf jours après son hospitalisation, à 2 gr. 70. Le malade est alors mis au régime déchloruré. Le 27 avril, la quantité d'urée sanguine atteint 3 gr. 38. La tension artérielle est de 15-9 (Vaquez).

1. La seule mention que nous trouvons, dans la bibliographie, de l'influence de l'urée sur les facteurs stimulant la culture des microbes, est une expérience de COLE et LLOYD en 1916-1917. Ces auteurs ajoutent de l'urée à un milieu à l'extrait de sang, à la tryptamine et à l'extrait de tissu, qui est favorable à la culture du gonocoque. Ils constatent que l'urée, au taux de 2 %, est très nettement empêchante pour le développement initial de la culture. Cette proportion de 2 %, on le sait, n'est jamais observée chez des malades.

Le 3 mai, la somnolence du malade augmente.

Le 7 mai, le malade présente, outre la fatigue et de la somnolence, des vomissements alimentaires rebelles à la potion de Rivière, et quitte le service pour rentrer chez lui.

T. A. : 14-9 (Vaquez).

Albumine dans l'urine : 4 gr.

Urée sanguine : 3 gr. 73.

Le même jour, 7 mai, fut pratiquée la ponction veineuse pour la culture du B. de Ducrey.

XXV gouttes de sang sont incorporées à 10 cmc. de gélose fondue. Nous ensemençons le B. de Ducrey le 8 mai 1928. Nous observons, 48 heures plus tard, le 10 mai, des petites colonies en assez grand nombre, arrondies et isolées.

L'examen microscopique confirme cette observation : de nombreux B. de Ducrey typiques sont visibles après coloration au bleu de méthylène.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans ce sang contenant 3 gr. 73 d'urée.

OBS. IV. — *Néphrite azotémique, albuminurique, hypertensive.*

M^{me} P. F..., âgé de 57 ans, femme de ménage, entre dans le service du prof. LEMIERRE, salle Louis, de l'hôpital Bichat, le 2 février 1928, pour grande fatigue générale, douleur rétro-sternale, mouches volantes devant les yeux et vertiges.

Le début de la maladie remonte à sept ans. En 1921, la malade, à la suite d'une grippe, se sent fatiguée, se plaint de céphalée ; un examen d'urine, pratiqué à ce moment, révèle une albuminurie quotidienne de 5 gr. La malade ne suit pas le régime prescrit par le médecin et ce n'est qu'en mai 1927 qu'elle vient à l'hôpital pour un accident aigu. Elle présentait un épistaxis très abondant qui avait nécessité un tamponnement.

A ce moment, l'examen complet de la malade avait fait diagnostiquer une néphrite azotémique hypertensive, en raison du taux de l'urée sanguine (2 gr. 10).

Un régime lacto-végétarien, de petites saignées et la digitale avaient été prescrits.

La malade sort en août 1927 du service où elle revient actuellement pour ces mêmes troubles fonctionnels : bourdonnement d'oreilles, mouches volantes, céphalée, vertiges, fatigue générale, crampes douloureuses dans les mollets, vomissements et diarrhée fréquents.

A l'examen, on est frappé de la pâleur de la malade qui a un teint cireux et blafard.

A l'examen de l'appareil cardio-vasculaire, on constate que la pointe siège dans le 5^e espace intercostal gauche. Petit souffle systolique aortique, persistant en position assise. Clangor intense du 2^e bruit.

Le pouls est à 80.

T. A. : 30-10 (Vaquez).

Le foie n'est pas hypertrophié ni douloureux.

L'examen des autres appareils donne des résultats négatifs. L'examen des urines les montre abondantes et pâles ; albumine : 2 gr. par 24 heures, ni sucre ; ni urobiline.

Urée sanguine : 1 gr. 86.

Formule leucocytaire :

Globules rouges : 2.290.000.

Globules blancs : 4.500.

Une saignée de 300 cmc., le jour de son hospitalisation, soulage la malade. Puis un traitement par la digitale, puis par la trinitrine, avec des saignées, améliore l'état général, mais l'urée sanguine, non seulement persiste, mais augmente, pour atteindre 2 gr. 13 le jour de la ponction veineuse qui nous a servi à prendre du sang pour la culture du B. de Ducrey. La tension artérielle est à ce moment-là de 19 1/2-9 1/2 (Vaquez).

Lesensemencement avec le B. de Ducrey, pratiqués sur les milieux de culture préparés avec le sang de cette malade, ont permis d'obtenir des cultures très abondantes.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans ce sang contenant 2 gr. 13 d'urée.

C. — EXISTENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE DES BACTÉRIES DANS LE SANG DE DIABÉTIQUES.

Nous avons recherché si l'augmentation du sucre dans le sang trouble le développement du B. de Ducrey dans un milieu de culture préparé avec ce sang.

Pour ces expériences, nous nous sommes servi de sang défibriné de malades présentant les troubles généraux et les signes fonctionnels du diabète.

OBS. V. — *Diabète.*

L..., âgé de 74 ans, sans profession, est amené en ambulance à l'hôpital, pour grande fatigue générale et dyspnée violente survenue depuis une quinzaine de jours environ.

L'interrogatoire est assez difficile, le malade comprenant bien les questions mais y répondant mal et se souvenant peu de ses antécédents. Mais on apprend que, à part un rhumatisme articulaire dans sa jeunesse, il aurait été bien portant jusqu'à l'âge de 66 ans. A ce moment, il y a huit ans, le malade aurait appris qu'il avait le diabète, à la suite d'une infection de la jambe droite, laquelle infection a nécessité l'amputation de la cuisse droite. Depuis cette époque, la fatigue générale, la dyspnée ont augmenté.

Au moment de son hospitalisation, le malade n'est pas dans le coma, comprend ce qu'on lui dit, mais est plongé dans un état de torpeur et sa respiration présente le type de la respiration de Kussmaul. A l'examen, on note une langue saburrale humide, une très mauvaise denture, de petits foyers de râles humides aux deux bases.

L'appareil cardio-vasculaire est normal.

Pouls rapide, à 120.

T. A. : 13 1/2-7 1/2 (Vaquez).

Système nerveux normal.

L'examen des urines montre des traces d'albumine, la présence de sucre et de corps acétoniques ainsi que des traces d'urobiline.

L'examen du sang révèle :

0 gr. 49 d'urée sanguine ;

2 gr. 72 de glycémie ;

71,8 de réserve alcaline.

Le 22 juin 1928, nous ensemençons le B. de Ducrey sur de la gélose additionnée de XXV gouttes de sang du malade.

Ces ensemencements ont permis d'obtenir des cultures très abondantes de B. de Ducrey.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans ce sang contenant 2 gr. 72 de sucre.

OBS. VI. — *Diabète avec insuffisance mitrale.*

Mme B. S. C..., âgée de 60 ans, sans profession, entre le 20 janvier 1928 dans le service du prof. LEMIERRE, salle Louis, de l'hôpital Bichat, pour grande fatigue, céphalée et douleurs épigastriques. La malade présente, depuis quatre mois environ, de la polydypsie, de la polyurie et un amaigrissement notable ; elle aurait perdu 8 kilos en 18 mois. On note l'absence de polyphagie.

A l'examen, on constate que la malade est amaigrie, fatiguée, a une mauvaise denture et présente, sur le thorax, de nombreuses cicatrices de furoncles.

L'examen du cœur permet d'entendre, à la pointe, un souffle systolique très intense, en jet de vapeur, prolongé, irradiant vers l'aisselle et, à la base, un souffle systolique moins intense, siégeant dans le deuxième espace intercostal gauche, sans irradiation.

Le pouls est à 100, bien frappé et régulier.

T. A. : 13-8 (Vaquez).

L'examen des autres appareils donne un résultat négatif.

Dans les urines, on ne trouve pas d'albumine ni d'urobiline, mais beaucoup de sucre, et les réactions de Gerhard et de Legal sont très fortement positives.

Urée sanguine : 0 gr. 28.

Glycémie : 2 gr. 72.

La malade est traitée par l'insuline et présente, après son traitement, 3 gr. 20 de sucre dans le sang.

Les cultures de B. de Ducrey, faites sur des milieux préparés avec ce sang contenant 3 gr. 20 de sucre, ont été semblables aux cultures obtenues avec des milieux au sang normal.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans ce sang contenant 3 gr. 20 de sucre.

D. — EXISTENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE DES BACTÉRIES
DANS LE SANG D'ICTÉRIQUES.

Enfin, nous avons étudié le développement du B. de Ducrey dans le sang d'un malade atteint d'ictère catarrhal et dans le sang d'un malade atteint de néoplasme de la tête du pancréas.

OBS. VII. — *Ictère catarrhal.*

Jean E..., âgé de 37 ans, garçon de café, entre dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, le 18 juin 1928, pour ictère généralisé des muqueuses et des téguments.

Cet ictère date d'une quinzaine de jours. Il a été précédé de phénomènes infectieux : fièvre, céphalée intense, anorexie, etc., puis coloration des muqueuses en jaune, et envahissement généralisé de toutes les muqueuses et des téguments par l'ictère, qui n'a présenté aucune rémission et n'a jamais été accompagné de prurit ni de brachycardie.

On ne retrouve, dans les antécédents du malade, aucune affection ni aucun antécédent lithiasique, mais on note des signes d'éthylisme chronique : pituite matinale, cauchemars, crampes dans les mollets.

Les signes physiques sont assez nets et, outre la teinte ictérique généralisée, on constate un foie légèrement hypertrophié, dépassant de deux travers de doigt le rebord costal, et légèrement douloureux à la palpation. Les *féces* sont décolorées, blanc mastic, et les urines hautes en couleur, acajou, ne contiennent ni albumine, ni sucre, ni urobiline, mais des *sels biliaires* et beaucoup de *pigments biliaires*.

Le dosage de la cholémie a été pratiqué le même jour que l'ensemencement du B. de Ducrey, dans du sang prélevé au malade. La méthode de Fouchet indique une cholémie de 1/5.000.

Le 22 juin 1928, nous ensemençons une spatule de B. de Ducrey sur de la gélose additionnée de XXV gouttes de sang du malade. Deux jours après, le 24 juin, nous avons eu de belles cultures aussi abondantes que les cultures du B. de Ducrey sur du sang normal. Sur la surface de la gélose au sang, on voit de petites colonies séparées les unes des autres, et très nombreuses. L'examen microscopique montre des B. de Ducrey normaux.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans le sang d'un malade atteint d'ictère catarrhal.

OBS. VIII. — *Néoplasme de la tête du pancréas.*

M^{me} B..., âgée de 78 ans, sans profession, entre le 6 juillet 1928 dans le service du prof. LEMIERRE, salle Louis de l'hôpital Bichat, pour

ictère intense, jaune foncé, datant de 8 jours environ. La malade, depuis trois mois déjà, maigrissait, était fatiguée et avait perdu l'appétit ; ce n'est que depuis une quinzaine de jours qu'elle a constaté l'existence de l'ictère.

Dans ses antécédents, on ne trouve qu'une fièvre typhoïde à l'âge de 35 ans, et la malade n'a jamais présenté, auparavant, ni d'ictère, ni de lithiase biliaire.

A l'examen de la malade on constate, outre l'ictère intense et la grande asthénie, l'absence de prurit et de brachycardie. La palpation de l'abdomen le montre souple, non douloureux, mais très météorisé ; elle permet de sentir, dans la fosse iliaque droite, des masses très dures probablement stercorales (la malade déclare être constipée depuis cinq jours environ). Mais, sous le foie, à droite, indépendante de lui, se trouve une petite masse très dure, douloureuse au palper, qui paraît être néoplasique.

L'examen des autres appareils donne un résultat complètement négatif.

Le cœur est normal ; pouls 84, régulier.

T. A. : 12,5-6,5 (Vaquez).

Dans les urines on ne trouve ni albumine ni sucre ni urobiline ni sels biliaires, mais beaucoup de *pigments biliaires*.

Du sang est prélevé à la malade, le 9 juillet. Il est aussitôt incorporé à de la gélose et l'ensemencement du B. de Ducrey est pratiqué le même jour sur cette gélose au sang. Le 11 juillet apparaissent, dans les tubes de culture, de nombreuses colonies de B. de Ducrey typiques.

En résumé, pas de modification apparente des facteurs stimulant les cultures bactériennes, dans le sang d'un ictérique atteint d'un néoplasme de la tête du pancréas.

2^o Facteurs de croissance des bactéries dans des sérosités pathologiques.

Il est de notion classique, depuis le travail de WERTHEIM en 1889, que le liquide d'ascite et les autres sérosités humaines contiennent des facteurs de croissances très favorables à la culture du Gonocoque et des bactéries du même groupe.

Dans les expériences dont l'exposé suit, nous avons comparé entre elles les cultures, sur des sérosités provenant de 7 malades, de trois souches de Gonocoques provenant de la collection de l'Institut Pasteur :

Souche 5	que nous appellerons A
Souche 10.....	que nous appellerons B
Souche 17.....	que nous appellerons C

Les sérosités étaient :

3 fois des liquides d'ascite (provenant de deux cardiopathies et d'une cirrhose de Laënnec).

4 fois des épanchements pleuraux (2 d'origine cardiaque, une pleurésie séro-fibrineuse, un épanchement survenu au cours d'une maladie de Hopkins).

Nous verrons que chacune des souches A, B, C, de Gonocoques a montré des préférences pour les unes ou les autres des 7 sérosités, mais qu'elles n'ont pas régulièrement toutes trois les mêmes préférences. Si l'on voulait classer les 7 sérosités d'après les facteurs-favorables à la croissance des Gonocoques qu'elles renferment, il faudrait faire un classement individuel pour chaque souche de Gonocoques.

A. — EXISTENCE DE FACTEURS DE CROISSANCE POUR TROIS SOUCHES DIFFÉRENTES DE GONOCOQUES DANS DU LIQUIDE D'ASCITE.

OBS. IX. — *Néphrite chronique azotémique, avec ascite d'origine cardiaque.*

Jean J..., âgé de 32 ans, chimiste, est transporté le 28 mai 1928 dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, dans un état semi-comateux, entrecoupé de crises d'étouffement. Il y a 8 mois. le malade fut intoxiqué par du brome, et une radioscopie des poumons avait fait penser à de la bacillose, lorsque l'examen des urines montra de l'albuminurie, et un dosage d'urée fait en novembre 1927 indiqua 0 gr. 86 d'urée sanguine.

Au cours de divers examens, le chiffre de l'albuminurie variait entre

2, 3 et 4 grammes. Mais l'état général restait bon. Brusquement, le 27 mai, le malade présente un œdème très marqué à la face et aux membres inférieurs et tombe dans cet état de torpeur accentué qu'il présentait à son entrée dans le service. On observe, outre cet état semi-comateux, une bouffissure de la face qui est cyanosée, un œdème blanc, mou, non douloureux des malléoles, et de l'ascite en moyenne abondance. L'examen des poumons révèle une forte congestion des bases, celui du cœur une impulsion marquée de la pointe, mais pas de souffle ni de bruit de galop. Le pouls est à 104.

La tension artérielle est de 21-14 (Vaquez).

L'examen du système nerveux montre des pupilles en myosis réagissant faiblement à la lumière ; les réflexes tendineux sont conservés et on constate un signe de Babinski à droite.

Dans les urines on trouve de l'albumine mais pas de sucre ni d'urobiline, ni d'acidose.

Urée sanguine : 1 gr. 97. Mais elle ne tarde pas à augmenter. Le 29 mai elle atteint 2 gr. 47 et les chlorures 3 gr. 15 par litre.

Enfin, le 30 mai, la quantité d'urée sanguine est de 2 gr. 82, la réfractométrie, de 72, la pression veineuse, de 23.

L'examen du sang indique un certain degré d'anémie.

Globules rouges : 3.390.000.

Globules blancs : 5.700 se divisant en :

Petits mononucléaires : 78.

Grands mononucléaires : 5.

Moyens mononucléaires : 16.

Lymphocytes : 1.

Le 4 juin, la quantité d'urée sanguine est de 3 gr. 19 ; la réfractométrie, de 74.

Le 5 juin, nous ponctionnons l'ascite. Nous retirons un litre de liquide jaune citrin où l'examen cytologique montre : de nombreuses hématies, quelques cellules, de rares lymphocytes, l'absence de polynucléaires. Ce liquide contient 28 gr. d'albumine.

Le 5 juin 1918, à 16 heures, nous ensemençons les trois souches A B et C de Gonocoques provenant de la collection de l'Institut Pasteur sur de la gélose additionnée de liquide d'ascite du malade recueilli le matin même. D'autre part, des ensemencements semblables sont pratiqués sur de l'ascite artificielle de l'Institut Pasteur, pour servir de contrôle.

Le lendemain, 6 juin, à 16 heures, donc 24 heures exactement

après l'ensemencement, nous constatons, sur les 2 milieux, des résultats identiques.

La souche A de Gonocoques *n'avait pas donné de colonies*, tandis que la souche B montrait des colonies isolées, arrondies, punctiformes, d'un blanc grisâtre, légèrement translucide. Ces colonies n'étaient pas très abondantes. Au contraire, la souche C donnait des cultures très abondantes et plus opaques.

L'examen microscopique montre, dans les cultures des souches B et C, des Gonocoques de morphologie normale.

48 heures après l'ensemencement les résultats se confirment : La souche B donne des colonies isolées disséminées sur le milieu. La souche C couvre le milieu de colonies presque cohérentes. La souche A ne pousse pas.

En résumé, le liquide d'une ascite d'origine cardiaque, provenant d'un cas de néphrite chronique azotémique, dont le pouvoir favorisant est essayé sur 3 souches de Gonocoques, A, B et C, provoque une culture abondante de la souche C, médiocre de la souche B et ne provoque aucune culture de la souche A.

Lesensemencements pratiqués sur des tubes témoins contenant de la gélose à l'« ascite artificielle » de Legroux donnent exactement les mêmes résultats.

OBS. X. — *Maladie mitrale avec hypertension et ascite.*

M^{me} B..., âgée de 56 ans, ménagère, entre le 2 décembre 1927 dans le service du prof. LEMIERRE, salle Louis, de l'hôpital Bichat, pour dyspnée violente et constante et pour œdème des malléoles.

Ces accidents ont débuté, il y a 6 mois, par de la dyspnée d'effort et de la fatigue générale et un léger œdème survenant le soir.

Dans les antécédents personnels, on ne note aucune affection antérieure ni aucun rhumatisme articulaire aigu.

Le jour de son entrée dans le service, on est en présence d'une malade très dyspnéique, ayant les extrémités froides ; les lèvres, le nez et les oreilles sont cyanosés. La face est œdématiée et l'examen de l'abdomen montre une paroi œdématiée, une augmentation de volume de l'abdomen sans circulation collatérale. A la palpation et à la percussion, on

constate une matité des flancs, mobile avec les positions de la malade et une sensation de flot tout à fait caractéristique. Une ponction exploratrice permet de retirer un liquide jaune citrin, contenant 32 gr. d'albumine.

Le foie est difficile à palper mais paraît gros et sensible. L'examen de l'appareil cardio-vasculaire décèle un souffle systolique de la pointe, irradiant vers l'aisselle.

Le pouls est rapide, irrégulier ; 120 pulsations.

T. A. : 23-15 (Vaquez).

A l'auscultation de l'appareil pulmonaire on entend, à la base gauche, une inspiration très rude et un foyer de râles humides ; à droite on perçoit de la matité avec souffle expiratoire. Une ponction exploratrice permet de retirer un liquide jaune citrin contenant 13 gr. 8 d'albumine.

Dans les urines on ne trouve ni albumine, ni sucre, ni urobiliné.

La quantité d'urée sanguine est de 0 gr. 50.

La quantité d'ascite augmentant rapidement, on est obligé de faire plusieurs ponctions :

Le 22 février 1928, première ponction qui permet de retirer 6 litres 300 de liquide d'ascite, dans lequel l'examen cytologique met en évidence de nombreux lymphocytes et des cellules isolées. Quelques placards endothéliaux. Pas de polynucléaires. Ce liquide contient 38 gr. 6 d'albumine.

Le 16 mars, deuxième ponction de 6 litres 300, avec même formule cytologique.

Enfin, le 22 avril, troisième ponction. Ce n'est que le 10 mai que nous avons retiré, par ponction exploratrice, le liquide ascitique qui nous a servi à faire nos milieux de culture.

Nous ensemençons avec les 3 mêmes souches de Gonocoques A, B, et C les milieux préparés avec le liquide d'ascite de la malade.

Vingt-quatre heures plus tard, nous constatons que les souches A et B donnent de petites colonies blanchâtres, arrondies, extrêmement nombreuses, tandis que la souche C qui, dans l'expérience précédente, sur une ascite d'origine cardiaque, avait donné une culture très florissante, ne donne ici que quelques colonies assez grosses et disséminées sur le milieu de culture.

Au microscope, on voit des Gonocoques typiques dans les trois préparations provenant des souches A, B et C.

En résumé, le liquide d'ascite provenant d'une malade atteinte

de maladie mitrale, dont le pouvoir favorisant est essayé sur 3 souches de Gonocoques, provoque une culture abondante des souches A et B et une culture très médiocre de la souche C.

OBS. XI. — *Cirrhose de Laënnec.*

M..., âgé de 38 ans, garçon de bureau, entre dans le service du prof. LEMIERRE, le 10 avril 1928, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour augmentation du volume de son abdomen et fatigue générale. Le début de cet état remonte à quelques mois environ.

A l'examen, on constate une ascite libre, mobile avec les différentes positions du malade, et une ponction exploratrice permet de recueillir un liquide jaune citrin.

Après la ponction, on constate un petit foie et une rate normale. Tous les autres appareils sont normaux.

T. A. : 13 1/2-8 (Vaquez).

Dans les urines, pas d'albumine, pas de sucre mais de l'urobiline.

Le 14 mai, nous ensemençons les souches B et C de Gonocoques sur le liquide ascitique. Nous observons, le 15 mai, de très nombreuses petites colonies réparties sur toute la surface des milieux de culture ensemencés avec les deux souches.

En résumé, le liquide d'ascite, provenant d'un cas de cirrhose de Laënnec, dont le pouvoir favorisant est essayé sur les 2 souches de Gonocoques B et C provoque une culture abondante des deux souches.

B. — EXISTENCE DE FACTEURS DE CROISSANCE POUR TROIS SOUCHES DIFFÉRENTES DE GONOCOQUES DANS DU LIQUIDE PLEURAL.

OBS. XII. — *Asystolie avec pleurésie droite.*

François P..., âgé de 62 ans, cimentier, entre dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour point de côté droit et dyspnée très violente.

Ces symptômes ont débuté il y a quelques mois, et n'ont fait qu'aug-

menter pour atteindre leur maximum le jour de l'hospitalisation du malade.

L'examen des poumons permet de constater une matité franche à la base droite, avec abolition du murmure vésiculaire. A l'auscultation du cœur on entend des bruits irréguliers, assourdis, mais pas de souffles. Le pouls est à 100.

T. A. : 13-9 (Vaquez).

Le foie est légèrement hypertrophié et douloureux.

Dans les urines : ni albumine, ni sucre, ni urobiline.

Urée sanguine : 0 gr. 52.

Le 4 mai, on fait une ponction pleurale et l'on recueille 1 litre 500 de liquide jaune citrin contenant 14 gr. d'albumine, quelques placards endothéliaux et quelques cellules isolées.

Nous ensemençons, le 15 mai, sur des milieux additionnés de XXV gouttes de liquide pleural de ce malade pour 10 cmc. de bouillon gélosé, les trois souches A, B, C de Gonocoques.

Le 16 mai, nous constatons l'existence de très nombreuses petites colonies dans les tubes des souches B et C, et l'absence de toute culture dans le tube de la souche A.

Le 17 mai, quelques petites colonies apparaissent, avec 24 heures de retard sur les autres souches, dans le tube de la souche A.

En résumé, le liquide pleural, recueilli chez un asystolique, dont le pouvoir favorisant est essayé sur les trois souches de Gonocoques A, B et C, provoque une culture abondante des souches B et C, une culture tardive et médiocre de la souche A, dont les colonies n'ont apparu qu'un jour après celles des autres souches.

OBS. XIII. — *Pleurésie d'origine cardiaque.*

Jean B..., âgé de 80 ans, veilleur de nuit, entre dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour point de côté gauche, toux sèche et dyspnée d'effort. Ces accidents datent de trois ans environ et on ne retrouve aucune affection pulmonaire dans les antécédents.

La percussion des poumons révèle une matité siégeant à la base gauche et qui remonte jusqu'à l'épine de l'omoplate.

L'espace de Traube est sonore. A l'auscultation, on constate une

diminution du murmure vésiculaire et un souffle pleurétique très net, de l'égophonie et de la pectoriloquie aphone ; on entend des râles humides à la partie moyenne du poumon opposé. A l'auscultation du cœur on entend des bruits assourdis difficiles à percevoir.

Le pouls est à 100.

T. A. : 14-10,5 (Vaquez).

Le foie dépasse le rebord costal de deux travers de doigt ; il est légèrement douloureux.

Dans les urines : ni albumine, ni sucre, ni urobiline.

Urée sanguine : 0 gr. 62.

Réfractométrie : 89,2.

Enfin, l'examen du liquide pleural, fait le jour même du prélèvement pratiqué pour le milieu de culture, montre un liquide jaune clair, contenant 13 gr. 8 d'albumine, avec un culot hémorragique, et quelques rares cellules. Hyperlymphocytose avec quelques rares polynucléaires.

Nous ensemençons, le 29 juin, les 3 souches de Gonocoques A, B, C, sur des milieux additionnés de liquide pleural provenant de ce malade et prélevé le même jour.

Vingt-quatre heures plus tard, le 30 juin, nous constatons la présence de belles cultures sur les tubes ensemencés avec les 3 souches.

En résumé, du liquide pleural, recueilli chez un malade en état d'asystolie, donne des cultures abondantes avec les trois souches de Gonocoques A, B, C.

OBS. XIV. — *Pleurésie séro-fibrineuse.*

Albert B..., âgé de 28 ans, employé de bureau, entre le 23 mai 1928 dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, sur les conseils de son médecin qui lui avait fait une ponction pleurale et lui avait retiré du liquide. Les signes fonctionnels sont peu marqués : léger point du côté droit, toux sèche et quinteuse accompagnée d'expectoration muco-purulente datant d'une quinzaine de jours environ. La température a toujours oscillé aux environs de 37° et 37°8.

A l'examen, on constate l'existence d'une matité à la base droite, s'étendant en arrière jusqu'à trois travers de doigt au-dessous de l'épine de l'omoplate ; en avant, cette matité décrit la courbe de Damoiseau.

Dans cette zone de matité, à l'auscultation on constate l'abolition du murmure vésiculaire, et, dans la région inter-scapulo-vertébrale droite, un souffle pleurétique accompagné d'égophonie et de pectoriloquie aphone.

Les autres appareils sont tout à fait normaux.

Pouls à 70.

T. A. : 14-8 1/2 (Vaquez).

Dans les urines : ni albumine, ni sucre, ni urobiline.

Urée sanguine : 0 gr. 35.

Nous ensemençons le 25 mai les trois souches A, B, C de Gonocoques sur les milieux de culture additionnés du liquide pleural de ce malade.

Le lendemain 26 mai, nous constatons l'apparition de nombreuses colonies dans les tubes ensemencés avec les souches A et C, tandis que les tubes ensemencés avec la souche B ne présentent que quelques colonies isolées.

Ce n'est que le 29 mai, 3 jours plus tard, que la souche B donne des cultures aussi abondantes que les 2 autres souches.

En résumé, la sérosité de l'épanchement d'une pleurésie séro-fibrineuse stimule de belles cultures des deux souches de Gonocoques A et C, et ne donne de cultures normales avec la troisième souche B qu'après un « retard initial » de quatre jours.

OBS. XV. — *Adénite chronique avec épanchement pleural droit et anémie profonde. Maladie de Hopkins.*

Gaston B..., âgé de 63 ans, publiciste, entre dans le service du prof. LEMIERRE, salle Bazin, de l'hôpital Bichat, pour point de côté droit. dyspnée d'effort et fièvre à 38°2. Ces accidents datent d'une semaine environ.

A l'examen, on est frappé de l'amaigrissement, de l'asthénie du malade et d'une légère adénopathie axillaire et inguinale bilatérale. A la base droite, la percussion décèle de la matité et l'auscultation quelques râles humides. Une ponction, faite à cette base droite, permet de retirer un litre d'un liquide jaune citrin séro-fibrineux, où l'examen cytologique montre des lymphocytes et des placards endothéliaux, avec 48 gr. d'albumine.

La rate est perceptible et non palpable.

L'examen des autres appareils reste négatif.

Pouls à 106.

T. A. : 12-7 (Vaquez).

Dans les urines : ni albumine, ni sucre, ni urobiline.

Urée sanguine : 0 gr. 40.

La formule sanguine montre une anémie intense (globules rouges 2 millions) et de l'hyperleucocytose (15.000 leucocytes).

Le malade succombe le 17 juin 1928 et l'autopsie montre l'existence d'une sérosité assez abondante dans le péricarde, des poumons normaux et un épanchement séro-fibrineux abondant dans la plèvre droite, sans aucune lésion pleurale.

Pas de ganglions volumineux dans le médiastin. Pas de ganglions abdominaux.

Le foie, la rate et les reins sont normaux.

Le 15 mai 1928, nous ensemençons les 3 souches de Gonocoques A, B, et C sur de la gélose additionnée du liquide d'épanchement pleural de ce malade, prélevé le jour même.

Le lendemain, 16 mai, nous constatons la présence de belles cultures des souches B et C et l'apparition de rares colonies isolées de la souche A.

En résumé, le liquide pleural d'un malade atteint d'adénite chronique avec anémie profonde donne lieu à des cultures abondantes des souches B et C et seulement à des cultures chétives de la souche A.

3^e Résumé

Le sang de sujets atteints d'avitaminose C (scorbut) contient très nettement moins de facteurs favorisant la croissance des microbes (B. de Pfeiffer et B. diphtérique) que le sang normal. Il n'en est pas de même du sang de sujets atteints d'avitaminose B (béribéri), qui présente à peu près les mêmes facteurs de croissance que le sang normal.

Le sang de malades présentant des troubles humoraux sans

symptômes d'avitaminose (cardiaques, brightiques, diabétiques, ictériques) contient les mêmes facteurs de croissance (pour le B. de Ducrey) que le sang de sujets sains.

En ce qui concerne les sérosités pathologiques, nous avons constaté que, non seulement (ce qui est conforme à l'opinion classique) une même souche de Gonocoque pousse très différemment sur une série de sérosités diverses, mais qu'inversement, une même sérosité fournit des cultures très différentes avec une série de souches diverses.

Nature et origine des sérosités	Souches de Gonocoques		
	A	B	C
I. Ascite d'origine cardiaque	0	+	++
II. Ascite d'origine cardiaque	++	++	±
III. Ascite de cirrhotique	»	++	++
IV. Liquide pleural d'origine cardiaque	+	++	++
V. Liquide pleural d'origine cardiaque	++	++	++
VI. Pleurésie séro-fibrineuse	++	±	++
VII. Adénite chronique avec anémie. Maladie de Hopkins	±	++	++

TROISIÈME PARTIE

*Des rapports entre les facteurs de croissance
pour animaux (Vitamines),
pour végétaux (Auximones),
et pour microbes.*

DES RAPPORTS ENTRE LES FACTEURS DE CROISSANCE POUR ANIMAUX (Vitamines), POUR VÉGÉTAUX (Auximones), ET POUR MICROBES.

Les trois groupes d'êtres animés : les animaux, les végétaux, les microbes ont besoin, avons-nous vu, pour leur nutrition, de *facteurs de croissance* définis ainsi :

Substances d'origine organique, de nature indéterminée, nécessaires ou au moins très utiles à la nutrition, et agissant à doses très minimes.

Les êtres, animaux ou végétaux, élevés en organisation, ne peuvent pas fabriquer les facteurs de croissance dont ils ont besoin, et sont obligés de les emprunter à leur alimentation :

Les animaux tirent leurs facteurs de croissance des plantes et des microbes.

Les plantes ne les tirent que des microbes.

Les microbes les tirent des animaux, des plantes, d'autres microbes, et, de plus, peuvent les fabriquer eux-mêmes dans des milieux minéraux.

En fin de compte, les microbes semblent bien être seuls, capables, dans la nature, de synthétiser les facteurs de croissance nécessaires à eux-mêmes et aux organismes supérieurs. C'est à eux qu'est dévolu le rôle de fabriquer les auximones pour les végétaux, et, de concert avec les végétaux, les vitamines pour les animaux.

On ne trouve pas de facteurs de croissance, ni pour les animaux, ni pour les végétaux, ni pour les microbes, dans le règne minéral, c'est-à-dire dans le monde des substances naturelles non organisées.

LES FACTEURS DE CROISSANCE

Nécessaires aux :	Sont fournis par les :		
	Animaux	Végétaux	Microbes
Animaux	0	+	+ <i>Vitamines</i> Vit. A. Vit. B.
Végétaux	0	0	+ <i>Auximones</i>
Microbes	+	+	+

Les connaissances sur les vitamines nécessaires à la nutrition des animaux étaient déjà avancées, lorsque se précisa la notion des facteurs de croissance favorisant la culture des microbes sur les milieux artificiels. Aussi a-t-on pris l'habitude d'appeler également « vitamines » les facteurs de croissance des microbes. On a même cru que les vitamines des animaux supérieurs et les facteurs de croissance des microbes étaient les mêmes substances.

Nous allons d'abord examiner cette question, puis nous étudierons l'élaboration, par les microbes, des facteurs de croissance favorisant leur propre culture sur milieu artificiel, ainsi que l'élaboration, par eux, des auximones et des vitamines.

CHAPITRE PREMIER

ACTION DES VITAMINES VRAIES (pour animaux) SUR LA CULTURE DES MICROBES EN MILIEU ARTIFICIEL

I. — VITAMINE HYDROSOLUBLE B.

PREMIÈRE OPINION : la vitamine B favorise la culture des microbes.

R. J. WILLIAMS, en 1919, cultive la levure sur un milieu synthétique, et, comparativement, sur le même milieu additionné de substances riches en vitamine hydrosoluble B. Il constate que dans ce dernier cas la culture de la levure est beaucoup plus intense. La vitamine B favoriserait donc la culture de la levure. WILLIAMS est le premier à formuler l'hypothèse de l'identité de la vitamine B et du bios. Il conclut que la levure pourrait ainsi servir de véritable réactif des vitamines.

Les vitamines liposolubles A n'exercent au contraire, d'après lui, aucune action sur la culture de la levure.

NAO UYEI, en 1927, émet l'opinion que la vitamine B, isolée des levures, ou des jus de citron ou d'orange, exerce une action stimulante très prononcée sur la multiplication du bacille tuberculeux. Au contraire, l'huile de foie de morue, riche en vitamine liposoluble A, ajoutée au milieu de culture, serait sans influence sur le bacille tuberculeux.

KLIGLER, en 1919, indique les caractères suivants des facteurs

de croissance pour les microbes, qui les rapprochent des vitamines pour les animaux : Les bactéries ne poussent pas dans les extraits seuls, employés à des dilutions correspondantes à celles où ils se trouvent dans les cultures positives. Dépouillés des protéines par l'alcool, les extraits sont encore favorables. La chaleur les affaiblit ou les détruit. Les meilleurs extraits sont ceux qui, préparés à froid, ou à 37° et même à 55°, sont ensuite filtrés, non stérilisés même à 100°.

DEUXIÈME OPINION : la vitamine B n'est pas un facteur de croissance pour les microbes.

LUMIÈRE montre en 1920 que les vitamines et le facteur favorisant la culture de la levure sont deux substances différentes.

« De la levure de bière fraîche, très riche en vitamines, susceptible de guérir rapidement les accidents polynévritiques des pigeons carencés, est chauffée à 135° pendant 1 heure. Par ce traitement, administrée même en grande quantité, elle a perdu toutes ses propriétés antiscorbutiques ; les vitamines qu'elle renfermait, actives pour les animaux, semblent complètement détruites, néanmoins cette levure peut servir à préparer des bouillons qui favorisent considérablement le développement des champignons cultivés sur les solutions pauvres à base de tartrate d'ammoniaque et de glycérine.

« En épuisant méthodiquement la levure par l'alcool, ou en précipitant son extrait par l'acide phosphotungstique, on parvient à isoler les principes vitaminiques et l'on peut ainsi obtenir, d'une part, la levure épuisée n'ayant plus aucune propriété curative de l'avitaminose et d'autre part, un extrait renfermant les vitamines actives ; ce dernier, évaporé et repris par l'eau, n'améliore pas les propriétés nutritives des milieux artificiels convenables, il est parfois plutôt nuisible à la végétation, tandis que la décoction de levure résiduelle, chauffée à 135° et dépouillée de ses vitamines par ces traitements, peut leur conférer des

« qualités qui permettent la végétation un peu plus abondante
« des cultures.

« *Les vitamines sont des substances indispensables à la vie, ne*
« *pouvant pas être remplacées par des composés chimiques définis,*
« *précipitables par l'acide phosphotungstique et les réactifs des*
« *alcaloïdes ; elles sont retenues par filtration sur la terre à foulon*
« *et détruites par la chaleur ; or, aucune de ces propriétés ne se*
« *retrouve dans les substances qui sont susceptibles d'améliorer,*
« *pour les végétaux, les qualités nutritives des milieux pauvres.*
« *Ces substances ne semblent donc pouvoir être assimilées aux*
« *vitamines dont elles ne possèdent aucune des propriétés carac-*
« *téristiques » (1).*

EMMET et STOCKHOLM montrent, en 1921, que le bios semble bien différent de la vitamine antinévritique, contrairement à ce que pense WILLIAMS.

FUNK et DUBIN, en 1921, sont parvenus à séparer de la vitamine B, par adsorption de celle-ci sur de la terre à foulon, une substance qu'ils désignent provisoirement sous le nom de « vitamine D », et qui agirait sur la croissance de la levure, et aussi sur celle d'une autre bactérie étudiée, le streptocoque. Nous avons déjà parlé de cette vitamine D au chapitre I^{er} de la Deuxième Partie, à propos des extraits de levure.

La vitamine B n'est donc pas, d'après FUNK et DUBIN, un facteur de croissance pour la levure.

EDDY, en 1924, donne les caractères suivants, rapportés d'après RANDOIN et SIMONNET, de la vitamine D ou bios, extraite de la levure de bière autolysée :

Substance cristalline azotée, fondant à 223°, de formule $C^5 H^{11} AzO^3$, exerçant une action favorable sur la culture des levures à

• 1. C. R. Ac. Sc., t. 171, 26 juillet 1920, p 272

la dose de 0 mmgr. 005 pour 1 cmc. de suspension de levure, résistant 4 à 5 heures à la température de 120°, résistant à l'action de l'hydrolyse acide, résistant à l'action de l'hydrolyse alcaline à chaud, résistant à l'action de l'oxydation, à celle de la réduction, adsorbable, dialysable.

WILLAMAN et OLSEN concluent de leurs expériences en 1923 que le « bios » est de la nature des vitamines, mais qu'il ne saurait être identifié à la vitamine B soluble dans l'eau ; il s'en distinguerait par sa solubilité dans l'alcool, par l'adsorption plus faible sur de la terre à foulon, par sa résistance aux alcalis, et par son comportement vis-à-vis de l'acide phosphotungstique et du chlorure de mercure. D'autre part soixante composés azotés furent étudiés (dont 49 par les auteurs eux-mêmes) au point de vue de leur action sur le développement de la levure ; aucun d'eux ne saurait être identifié au « bios ».

WYON conclut de ses expériences, en 1923, que la vitamine B ne favorise pas la croissance des bactéries. Elle est donc dissemblable du facteur qui stimule la culture des bactéries.

KOLLATH et LEICHTENTRITT, en 1925 et 1926, voient que les facteurs de croissance des bactéries (en l'espèce du B. de Pfeiffer) ne sont pas identiques aux vitamines actives pour les animaux. Des bactéries qui favorisent la culture de B. de Pfeiffer (B. du colon, B. de Friedländer, un mélange de bactéries de l'intestin) sont données à ingérer, soit à l'état vivant, soit tuées par un chauffage à 56°, à des cobayes qui sont soumis à un régime donnant le scorbut ; les résultats furent complètement négatifs ; la maladie et la mort des animaux ne furent en rien empêchées par ces substances qui activent la culture du B. de Pfeiffer.

M^{me} RANDOIN et SIMONNET donnent les caractères suivants qui séparent le bios de la vitamine B :

1° Le parallélisme apparent de la distribution de ces deux fac-

teurs de croissance dans la nature est fort grossier, fortuit, et insuffisant pour entraîner la conviction.

2° La vitamine B est très sensible à l'action des alcalis, à laquelle résiste le bios.

3° La vitamine B est soluble dans l'alcool éthylique à 95°, ainsi que dans l'alcool méthylique. Le bios est insoluble dans ces deux solvants, et n'est soluble que dans l'alcool à 80°.

Goy indique, en 1925, que le facteur de croissance très intéressant qu'il a isolé des cultures de *Mucor* se rapproche de la vitamine B en quelques points, mais en diffère par d'autres :

Caractères communs :

1. Nature organique ;
2. Action à dose infinitésimale ;
3. Nécessité d'un couvert minéral entier pour agir efficacement ;
4. Solubilité dans l'eau et l'alcool ;
5. Destructibilité par le radium ;
6. Absence dans la gélatine.

Caractères différentiels :

1. Grande résistance à la chaleur, même en milieu alcalin (3 gr. 40 en KOH), du facteur extrait du *Mucor* ;
2. Présence dans le grain de riz décortiqué, ainsi que dans certaines cultures de mucédinées comme celles de l'*Amylomucor* β ;
3. Filtration possible sur terre à foulon ;
4. Entière solubilité dans l'éther.

En résumé, la vitamine B ne peut pas jouer le rôle de facteur de croissance pour des microbes.

* * *

Les propriétés des facteurs de croissance des microbes sont spécifiques : déjà en 1858 PASTEUR signale avec surprise que la culture de la levure en milieu minéral, qui est stimulée par l'addition de

suc de fruit, l'est également par le sérum du sang, mais ne l'est point par l'albumine du blanc d'œuf. PASTEUR note aussi que le jus d'oignon, favorable à la culture du ferment lactique, est défavorable à la culture de la levure de bière.

II. — VITAMINE LIPOSOLUBLE A.

Dans les expériences qui suivent, nous avons cherché à voir si la vitamine liposoluble A pouvait rendre à une bactérie acido-résistante quelques-uns de ses caractères naturels, qu'elle avait perdus par la culture sur milieux artificiels.

La bactérie qui a servi pour ces recherches est *Nocardia asteroides*. Ce microbe avait été appelé *Actinomyces asteroides* par EPPINGER qui l'avait trouvé en 1890 dans le pus d'un abcès du cerveau, chez un malade ayant succombé à une méningite cérébro-spinale. Plusieurs noms furent donnés à cette bactérie.

En 1891, ROSSI DORIA l'appelle : *Streptothrix eppingeri*.

En 1892, SAUVAGEAU et RADAIS : *Oospora asteroides*.

En 1895, R. BLANCHARD : *Nocardia asteroides*.

En 1907, MUSGRAVE et CLEGG : *Streptothrix freeri*.

En 1909, LINDENBERG : *B. brasiliensis*.

BRUMPT, dans son *Précis de Parasitologie* (1927) le classe dans la section « *minora* » du genre « *Actinomyces* », classe des « Microsiphonés », parmi les « Hyphomycètes parasites ».

Dans le pus du malade, il se présente sous la forme de filaments ramifiés, isolés, qui parfois se dissocient en chaînettes ; on observe alors des éléments ressemblant à des bacilles ou à des microcoques. Ils ne sont pas décolorés par la méthode de Gram, sont acido-résistants, et sont virulents pour le lapin.

Les *Nocardia* qui nous ont servi et qui provenaient de la collection de l'Institut Pasteur, avaient subi de nombreux repiquages sur les milieux non glucosés de Sabouraud, et avaient perdu leurs caractères essentiels :

1° Ils n'étaient plus acido-résistants.

2° Ils n'étaient plus virulents pour le lapin.

Dans ces expériences, poursuivies sous la direction du Dr LE-GROUX, nous avons utilisé l'huile de foie de morue, l'huile d'arachide et l'huile d'œillette, provenant toutes les trois de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux civils de Paris.

Le 30 mai, nous avons incorporé XX gouttes de chacune de ces huiles, stérilisées, à 10 cmc. de gélose, et nous avons laissé ces tubes 24 heures à l'étuve à 37°.

Aucun germe étranger n'ayant poussé, nous avons ensemencé le 2 juin une anse de platine de culture de la *Nocardia* d'Eppinger. Nous observons le 4 juin des colonies abondantes blanchâtres dans les tubes de gélose additionnés d'huile d'œillette et d'huile d'arachide, et des colonies blanchâtres et plus abondantes encore dans la gélose additionnée d'huile de foie de morue.

Des tubes témoins, c'est-à-dire des tubes contenant des *Nocardia* ensemencés sur de la gélose pure, présentent des colonies blanchâtres plus petites et surtout beaucoup moins abondantes que celles des tubes précédents.

Ayant fait une préparation microscopique colorée par le procédé de Ziehl-Neelsen de ces différentes cultures, nous voyons des bacilles allongés et *décolorés*.

Nous repiquons le jour même, le 4 juin, les *Nocardia* sur trois tubes de gélose additionnés respectivement d'huile d'œillette, d'huile d'arachide et d'huile de foie de morue et sur des tubes témoins de gélose nutritive.

Nous constatons le lendemain 5 juin l'apparition de quelques colonies blanchâtres, isolées, sur la gélose ordinaire, et de colonies plus nombreuses sur les tubes de gélose additionnée d'huile végétale (huiles d'œillette et d'arachide), et enfin de colonies extrêmement nombreuses ayant envahi tout le milieu de culture dans les tubes contenant de la gélose additionnée d'huile de foie de morue. Au microscope nous voyons des bacilles décolorés par le procédé de Ziehl-Neelsen.

Nous repiquons les *Nocardia* encore plusieurs jours de suite, les 5, 6 et 7 juin, sur des tubes de gélose additionnée d'huile végétale (huile d'œillette) et d'huile animale (huile de foie de morue et huile

de saumon) et, pour servir de témoins, sur des tubes de gélose ordinaire. Nous observons toujours la présence de colonies plus abondantes sur les milieux à l'huile et en particulier sur la gélose additionnée d'huile de foie de morue que sur les tubes témoins.

Le 8 juin, après le quatrième repiquage, nous apercevons, sur une préparation microscopique de la culture ayant poussé sur un tube de gélose additionnée d'huile d'œillette, des granulations intra-bacillaires qui ne se décolorent pas par le procédé de Ziehl-Neelsen. Ces granulations intra-bacillaires, et non pas la totalité du corps bactérien, avaient donc acquis un pouvoir acido-résistant en se développant sur de la gélose additionnée d'huile d'œillette.

Pour voir ces granulations facilement au microscope, il faut avoir soin de dissoudre au préalable dans du xylol toute l'huile qui peut se trouver sur la lame.

Au début de nos expériences, ayant dégraissé insuffisamment nos préparations microscopiques, nous avons vu, au milieu de bacilles bien décolorés, quelques « nids » de bacilles ayant conservé la couleur rouge. Il est probable qu'ils étaient encore imprégnés d'huile, qui les avait protégés contre la décoloration.

Ce n'est qu'après avoir dégraissé la préparation soigneusement avec du xylol que nous avons constaté la disparition de ces bacilles acido-résistants.

Ainsi l'apparition, à partir du 4^e repiquage, de granulations acido-résistantes prend toute sa valeur démonstrative (1).

Il sera intéressant de voir si dans la suite des repiquages, ces granulations acido-résistantes deviennent plus nombreuses et plus grosses.

Nous avons voulu voir, d'autre part, si l'addition au milieu de culture de la vitamine liposoluble pouvait avoir comme effet l'exaltation de la virulence de la *Nocardia* d'Eppinger.

1. Dans sa thèse sur « l'huile de foie de morue et la tuberculose », F. C. J. BLANC dit en 1925-1926 que l'huile de foie de morue ne paraît pas avoir une action marquée sur l'acido-résistance du bacille de Koch. Des bacilles émulsionnés dans de l'huile de foie de morue à 37° pendant 5 mois ne perdent pas tous leur acido-résistance, ne sont pas altérés dans leur morphologie et ne deviennent pas granuleux.

Nous avons inoculé, dans la veine marginale de l'oreille de 2 lapins 2 cmc. d'une dilution d'une culture de *Nocardia* ayant poussé sur de la gélose additionnée d'huile. Dans le premier cas, gélose à l'huile d'œillette (lapin de 2 kgr. 500). Dans le deuxième cas, gélose à l'huile de foie de morue (lapin de 2 kgr. 765).

Le premier lapin est mort de pasteurellose quatre jours après avoir reçu son inoculation, et le second est toujours resté en bonne santé.

En résumé, la culture, sur milieux additionnés d'huiles contenant la vitamine liposoluble A, d'une souche de *Nocardia asteroides* d'Eppinger qui avait perdu son caractère acido-résistant, a rendu en partie cette propriété à cette souche : à partir du 4^e repiquage, des granulations acido-résistantes apparaissent.

CHAPITRE II

ÉLABORATION, PAR LES MICROBES, DE FACTEURS DE CROISSANCE

- 1° *Pour eux-mêmes ;*
- 2° *Pour les végétaux (auximones) ;*
- 3° *Pour les animaux (vitamines).*

1° Facteurs de croissance pour les microbes.

Nous prendrons pour exemple le Bacille du colon, que nous avons déjà cité, et qui a été étudié par ROBERTSON. Il est particulièrement intéressant, parce que c'est un microbe de la fumure du sol, et que c'est dans le sol que doivent s'engendrer sans doute et s'accumuler une grande réserve de facteurs de croissance pour les êtres animés.

ROBERTSON constate, en 1924, que le Bacille du colon semble capable de fabriquer des facteurs de croissance pour la levure. Cet auteur repique le Bacille du colon sur un milieu synthétique où la levure ne pousse pas :

Asparagine (Merck)	3 gr. 4
Chlorure de calcium.....	0 gr. 1
Dextrose	20 gr.
Sulfate de magnésium.....	0 gr. 2
Phosphate de potassium ($K_2 HPO_4$).....	1 gr.
Chlorure de sodium.....	5 gr.
Eau distillée stérile, q. s. p.....	1 litre

Quand il a obtenu la 68^e génération de B. du colon, il filtre la dernière culture, et voit que le filtrat du milieu de culture, dans

lequel a poussé le B. du colon, permet la culture de la levure. Il conclut que le B. du colon a fabriqué, dans ce milieu synthétique, un ou des facteurs de croissance pour la levure.

Nous avons indiqué, dans le 1^{er} Chapitre de la II^e Partie, de nombreux exemples d'élaboration par les microbes de facteurs de croissance pour les microbes, à commencer par l'extrait de levure favorable à la levure : Les microbes sont capables d'élaborer ces facteurs, par synthèse, dans les milieux minéraux (1).

2^o Fabrication, par les microbes, de facteurs de croissance pour les végétaux (auximones).

Les travaux de BOTTOMLEY et de ses collaborateurs, que nous avons rapportés au Chapitre II de la I^{re} Partie, ont montré, dès 1917, que les plantes supérieures sont incapables d'élaborer des auximones, mais qu'elles prennent ces auximones dans le sol, où elles sont produites par certaines bactéries.

3^o Fabrication, par les microbes, de facteurs de croissance pour animaux (vitamines).

A. — ELABORATION DE LA VITAMINE B PAR LA LEVURE.

La question de l'élaboration par la levure ou par d'autres microbes de la vitamine B est encore controversée : les deux thèses opposées ont des partisans. Peut-être la levure ne fait-elle que concentrer en elle cette vitamine B, sans la fabriquer elle-même. Il faudra, pour résoudre la question, de nouvelles expériences avec des techniques perfectionnées qui puissent mettre sûrement hors de cause les « impuretés » que risquent d'introduire les substances employées pour les milieux de culture. RANDOIN et LECOQ

1. Les microbes n'exercent pas seulement les uns à l'égard des autres des actions stimulantes de mutualisme et d'entr'aide, ils exercent aussi *in vitro* et *in vivo* des actions d'antibiose et d'antagonisme, qui sortent du cadre de notre sujet. (Voir le livre de G. PAPACOSTAS et J. GATÉ sur les *Associations microbiennes*.)

ont montré que la richesse de la levure de bière en vitamine B peut s'expliquer par l'abondance de celle-ci dans les milieux de culture employés.

1^{er} CAS. — *Exemples de microbes n'élaborant pas, par synthèse, des vitamines pour les animaux.*

WOLLMAN, en 1921, montre qu'il n'y a pas formation de vitamine C (antiscorbutique) par le Bacille bulgare cultivé en lait stérilisé.

Il montre, en même temps, qu'il n'y a pas non plus trace de production de vitamine antibériberique B par l'Amylomucor β (DELEMAR) cultivé sur riz glacé. On sait que cette vitamine B est abondamment fournie par la levure.

Dans des expériences sur des rats, publiées en 1922, WOLLMAN et VAGLIANO voient que ni le Bacille bulgare, ni l'Amylomucor B ne produisent de la vitamine B (facteur de croissance soluble dans l'eau), ni de la vitamine A (facteur de croissance soluble dans les graisses).

Il en est de même, d'après DAMON, pour le *B. typhoïdique*, le *B. paratyphoïdique* B, le *B. du colon* et le *B. subtilis*.

BIELING publie des résultats analogues. Des expériences faites avec le *B. pyocyanique*, le *B. coli*, et un mélange de bactéries intestinales du cheval, n'ont pu déceler la production de vitamine B de croissance (pour de jeunes rats), de vitamine C antiscorbutique (pour des cobayes scorbutiques), ni de vitamine B antinévritique (pour des pigeons).

KOLLATH et LEICHTENTRITT constatent que le *B. de Friedländer*, le *B. du colon*, ainsi qu'un mélange de bactéries intestinales du cobaye, sont incapables de produire de la vitamine C (antiscorbutique).

2^e CAS. — *Exemples de microbes élaborant, par synthèse, la vitamine hydrosoluble B.*

Cependant DAMON lui-même cite quelques expériences sur le rat d'après lesquelles le B. de Pfeiffer et un bacille acido-résistant élaborent la vitamine B.

NELSON, FURMER et CESSNA obtiennent en 1921, par culture de la levure dans des milieux synthétiques, des vitamines stimulatrices de la croissance (vitamine hydrosoluble B).

MAC DONALD et MAC COLLUM (1921) font, en un an, 180 passages successifs de levure sur un milieu synthétique, la semence comportant chaque fois 1 cmc. provenant d'une culture antérieure de 50 cmc. La concentration maxima possible des substances apportées par la semence initiale se trouve ainsi ramenée, dans la levure obtenue finalement, à 1×50^{180} .

Cette levure contient de la vitamine B. Elle a donc dû la fabriquer elle-même.

Mac DONALD constate, en 1922, que des rats soumis à un régime dévitaminé se comportent comme des animaux témoins si on ajoute à leur régime une culture de levure sur le milieu synthétique suivant :

Sucre de canne.....	50 gr.
Phosphate acide de potassium.....	2 gr.
Sulfate d'ammonium.....	2 gr. 35
Chlorure de calcium.....	0 gr. 25
Sulfate de magnésium.....	0 gr. 25

Donc la levure réalise la synthèse de la vitamine B.

EIJKMAN, van HOOGENHUIJZE et DERKS concluent de leurs expériences, en 1922, que s'il est exact que la levure fabrique par synthèse la vitamine soluble B, il n'en est pas de même de la vitamine antinévritique. La levure ne fabrique pas celle-ci, elle la

résorbe quand elle la trouve dans le milieu de culture (c'est une résorption, non pas une adsorption).

HELLER affirme en 1923 que, contrairement à l'opinion de EIJKMAN et de ses collaborateurs, la levure peut, en milieu défini, faire la synthèse non seulement de la vitamine B de croissance, mais aussi de la vitamine B antinévritique.

MAC DONALD publie, la même année, des recherches aboutissant aux mêmes conclusions, sur la synthèse de la vitamine B par la levure.

B. — ELABORATION DE LA VITAMINE A PAR LES DIATOMÉES.

Les diatomées (*Nitzschia closterium*) cultivées en culture pure sont les meilleurs producteurs du facteur liposoluble A (HJORT, 1922). JAMESON, DRUMMOND et COWARD voient, en 1922, que le *Nitzschia closterium*, en culture pure, apporte, à la dose quotidienne de 0 gr. 08 (poids sec), une quantité de vitamine A suffisante pour assurer la croissance du rat soumis à un régime dévita-miné. Les diatomées forment la principale nourriture de beaucoup de crustacés et de mollusques qui constituent le plankton. Comme les poissons se nourrissent de plankton, on peut émettre l'hypothèse que la vitamine de croissance liposoluble A est fournie aux poissons par des microbes, les diatomées.

* * *

En conclusion, les facteurs de croissance des microbes sont de même nature que les vitamines des animaux supérieurs mais ne leur sont pas identiques.

Une série de caractères physico-chimiques les en séparent : nous rapportons plus haut les observations des auteurs à ce sujet.

Nous voudrions signaler ici un caractère distinctif d'ordre physiologique dont nous n'avons pas trouvé mention dans la bibliographie :

Il n'y a pas d'accoutumance à l'avitaminose : les troubles graves, entraînant inévitablement une issue fatale, ne sont arrêtés que si l'on rétablit le régime vitaminé. Au contraire, des microbes qui ont besoin, pour leur culture primaire, qu'un facteur de croissance soit ajouté au milieu artificiel, arrivent à s'en passer pour les cultures secondaires. Un Vertébré ne s'acclimate pas à l'avitaminose, un microbe s'acclimate à un milieu sans facteur de croissance (1). Peut-être faut-il penser à la possibilité, dans les générations successives des microbes en culture, de mutations au sens de Hugo de VRIES.

Les microbes sont, dans la nature, les grands producteurs des facteurs de croissance pour les animaux, pour les plantes, et pour eux-mêmes. Ils sont les seuls êtres animés qui peuvent synthétiser des facteurs de croissance dans des milieux minéraux chimiquement purs.

En ce qui concerne l'origine des facteurs de croissance pour microbes, LEGROUX fait l'hypothèse suivante : il pense que les facteurs de croissance sont contenus dans les milieux habituels, mais sous une forme ou dans des combinaisons qui ne leur permettent pas d'agir. L'adjonction de certains produits a pour conséquence la formation de combinaisons nouvelles, qui libèrent les facteurs de croissance et les rendent utilisables par les microbes.

Une question se pose enfin, à laquelle nous ne pouvons pas encore répondre : quel est le mode d'action de ces facteurs de croissance : est-il nutritif ? est-il catalytique ?⁴

1. Pour conclure, nous serions de l'avis de SAZERAC, qu'il est préférable de réserver le nom de « vitamines » aux substances dont l'exclusion rigoureuse du régime alimentaire est capable de provoquer, chez les animaux supérieurs, l'apparition de symptômes de carence bien caractérisés.



CONCLUSIONS

I. — On peut cultiver un grand nombre de microbes (1) sur des milieux artificiels, composés de substances organiques stérilisées, ou même simplement de sels minéraux purs, chimiquement définis. Cependant, un certain nombre de microbes, surtout des pathogènes, ne peuvent s'accommoder de cette alimentation, au moins pour les cultures primaires, que si le milieu nutritif est additionné de certaines substances, actives à très petites doses.

Ces substances sont désignées sous le nom de « facteurs accessoires de la croissance des microbes », ou, simplement, de « facteurs de croissance », ou encore d'« hormones de croissance » et on leur attribue les caractères suivants :

Substances de nature organique indéterminée, ne pouvant pas être remplacées par des composés chimiquement définis ; agissant à doses infimes, à la manière des catalyseurs, sur le métabolisme, et ne constituant pas elles-mêmes des aliments ; leur action est spécifique ; l'action de ces facteurs n'a été éprouvée jusqu'à présent que sur la culture des microbes en milieu artificiel.

II. — Les propriétés des facteurs stimulant la culture des microbes les rapprochent des facteurs favorisant le développement ou le fonctionnement de l'organisme des animaux ou des végétaux. Mais ces différentes substances activantes diffèrent les unes des autres par des caractères physico-chimiques et par des caractères biolo-

1. On appelle « microbes » les êtres unicellulaires dont l'étude morphologique, à tous les stades, ne peut se faire qu'au microscope : Végétaux inférieurs (Champignons, Levures), Bactéries, Animaux inférieurs (Protozoaires)

giques. Il est préférable de réserver l'appellation de « vitamines » aux substances dont la carence entraîne des troubles graves chez les animaux supérieurs, le terme d'« auximones » aux substances qui activent la végétation des végétaux supérieurs, et d'employer le terme de « facteurs de croissance » pour les substances qui favorisent la culture des microbes sur des milieux artificiels.

III. — Les facteurs qui favorisent la culture des microbes peuvent provenir de trois origines : les uns sont fournis par des microbes, vivants ou morts, d'autres par des sucs ou des tissus végétaux, d'autres enfin par des humeurs ou des tissus animaux.

Les facteurs de croissance des microbes ont reçu différents noms, dont les rapports respectifs sont mal établis :

Bios de WILDIERS, tiré de substances organiques diverses.

Vitamine D de FUNK, trouvée dans des microbes, des tissus animaux et des tissus végétaux.

Facteur X et facteur V de THJÖTTA et AVERY, trouvés dans le sang, dans les tissus animaux ou végétaux. Le facteur V a été trouvé aussi dans des microbes.

L'« extrait globulaire » d'AGULHON et LEGROUX, tiré des globules rouges et qui contient l'essentiel des facteurs X et V.

Le « filtrat de *Mucor* » de P. GOR, etc...

Aucune classification ne sera possible tant qu'une étude expérimentale systématique ne réunira pas les résultats disparates des recherches accomplies jusqu'à présent.

IV. — Lorsque l'on veut apprécier l'action d'un facteur de croissance des microbes, il faut considérer les quatre points suivants :

1^o *Le départ de la culture* sur des milieux additionnés de ces facteurs, tandis que les milieux « témoins », sans ces facteurs, restent stériles.

2^o *La rapidité d'apparition de la culture*, ou durée de l'incubation, ou diminution du « retard initial ».

3^o *L'abondance de la culture*, mesurée soit par la pesée de la

masse microbienne, soit, lorsqu'il s'agit d'un ferment, par la mesure du CO^2 produit.

4^o *La longévité de la culture.*

V. — Les facteurs de croissance des microbes qui existent dans les humeurs normales des animaux semblent ne plus agir, lorsque l'organisme qui fournit ces humeurs est en état de nutrition déficiente par avitaminose. On peut supposer soit qu'ils ont été détruits, soit que leur action est masquée par celle de substances empêchantes.

Mais les facteurs de croissance ne semblent pas diminuer lorsque les organismes qui les fournissent souffrent d'un état pathologique qui ne relève pas d'une avitaminose.

VI. — Si, d'une façon générale, les vitamines vraies (pour animaux) ne sont pas actives pour les microbes, elles sont souvent, dans la nature, mêlées aux facteurs de croissance des microbes. Par exemple : des substances contenant la vitamine liposoluble A paraissent agir favorablement sur des bacilles acido-résistants cultivés sur des milieux artificiels : *Nocardia asteroides* d'Eppinger.

VII. — On n'a jamais trouvé de facteurs de croissance dans un milieu minéral chimiquement pur.

Les animaux et les végétaux sont incapables d'élaborer eux-mêmes leurs propres facteurs de croissance : les animaux empruntent leurs vitamines aux végétaux et aux microbes ; les végétaux empruntent leurs auximones aux microbes. Seuls, les microbes sont capables d'élaborer, par synthèse, aux dépens de substances minérales, les vitamines pour les animaux, les auximones pour les végétaux, et les facteurs de croissance nécessaires à d'autres microbes ou à eux-mêmes. Ainsi se précise le rôle important joué par les êtres unicellulaires dans le cycle de la vie à la surface de la terre.

APPENDICE

FORMULES DE QUELQUES MILIEUX DE CULTURE CONTENANT DES FACTEURS DE CROISSANCE POUR MICROBES.

Nous reproduisons, à titre d'exemples, la formule de quelques-uns des milieux de culture qui ont servi à l'étude des facteurs de croissance des microbes, avec les techniques indiquées par les auteurs.

Il nous a semblé intéressant de noter d'abord la composition de milieux synthétiques, chimiquement définis, qui contiennent les aliments les plus propres à la nutrition des microbes, mais qui sont complètement dépourvus de facteurs de croissance.

Nous donnons ensuite la formule de quelques milieux-types, contenant des facteurs de croissance extraits des levures, des champignons, des bactéries, des tissus végétaux, des tissus animaux (sang et autres tissus).

I. *Milieux synthétiques, sans facteurs de croissance :*

1° Liquide de Cohn.

2° Liquide de Mayer.

II. *Facteurs de croissance extraits des levures.*

3° Eau de levure.

III. *Facteurs de croissance extraits de bactéries.*

4° Gélose à l'extrait microbien de Giscard.

IV. *Facteurs de croissance extraits de champignons :*

- 5° Filtrat de mucor de Goy.
- 6° Gélose au sang et au filtrat de mucor de Tempé.

V. *Facteurs de croissance extraits de tissus végétaux :*

- 7° Eau de pomme de terre de Kollath.
- 8° Milieu réactif du facteur V d'après Kollath.
- 9° Milieu à la farine de pois de Gordon et Hine.
- 10° Milieux à l'amidon de Blaizot.

VI. *Facteurs de croissance extraits de tissus animaux (sang) :*

- 11° Gélose sanglante de Pfeiffer, modification de Giscard.
- 12° Extrait globulaire d'Agulhon et Legroux.
- 13° Succédané de l'ascite de Legroux.

VII. *Facteurs de croissance extraits d'autres substances animales :*

- 14° Milieu au jaune d'œuf, de Besredka.
- 15° Milieu à l'œuf complet, de Huntoon.
- 16° Gélose au testicule de taureau frais, de Giscard.

**I. — Milieux synthétiques,
sans facteurs de croissance.**

1° LIQUIDE DE COHN.

Le liquide de Cohn, qui contient les éléments nutritifs nécessaires à la culture de nombreux microbes, a la composition suivante :

Tartrate d'ammoniaque.....	2 gr. 0
Phosphate de potasse.....	1 gr. 0
Sulfate de magnésie.....	1 gr. 0
Phosphate tribasique de calcium.....	0 gr. 1
Saccharose pur.....	2 gr. 0
Eau distillée.....	200 gr. 0

2° LIQUIDE DE AD. MAYER.

Ce liquide contient les éléments minéraux principaux de la levure, dans les proportions révélées par l'analyse des cendres de levure.

C'est ce que montre la comparaison des 2 colonnes du tableau suivant, donné par E. DUCLAUX. La première colonne indique les quantités des divers éléments correspondant aux chiffres donnés pour le mélange nutritif, la seconde donne les nombres moyens des analyses de MITSCHERLICH, rapportés à 100 de cendres.

	Mélange Mayer	Mélange naturel
Acide phosphorique.....	0,056	56,7
Potasse	0,034	34,0
Magnésie	0,016	7,1
Chaux	0,005	2,6

Goy donne pour le milieu de Mayer la formule qui suit, d'après MACÉ :

Phosphate de chaux.....	0 gr. 05
Sulfate de magnésie.....	0 gr. 25
Phosphate de potasse.....	0 gr. 50
Nitrate d'ammoniaque.....	0 gr. 75
Eau	100 gr.

Ce mélange contient tous les sels minéraux indispensables à la culture de la levure.

Goy lui ajoute 6 % de saccharose.

II. — Facteurs de croissance extraits de levures.

3^o EAU DE LEVURE, d'après E. DUCLAUX.

On prend de la levure de brasserie, et non des levures de commerce, souvent additionnées de fécule, et qui, à raison de ce fait, ne donnent pas de décoctions limpides. On met cette levure en suspension dans l'eau, et on la passe au travers d'un tamis de soie à mailles serrées, pour la débarrasser de ses plus grosses impuretés. On laisse reposer quelques minutes le liquide tamisé : on le décante ensuite pour le séparer des poussières fines plus lourdes qui ont traversé le tamis, et on l'abandonne pendant 24 heures à lui-même. La levure se sépare, laissant au-dessus d'elle un liquide de lavage trouble, qu'on jette. On délaye le dépôt dans l'eau,

à raison de 40 à 50 grammes de levure humide par litre, et on fait bouillir en agitant constamment avec une spatule. Quand le liquide bout, on le jette sur un filtre. Le décoction est limpide quand la levure est fraîche. Quand elle est un peu louche, on réussit d'ordinaire à l'éclaircir en y déterminant un léger précipité de phosphate de chaux, au moyen de quelques gouttes d'une solution d'acide phosphorique qu'on sature ensuite avec de l'eau de chaux. La liqueur ainsi traitée devient neutre, tandis qu'elle est légèrement acide quand elle provient d'une simple décoction.

III. — Facteurs de croissance extraits de bactéries.

4° GÉLOSE A L'EXTRAIT MICROBIEN DE J.-B. GISCARD.

GISCARD cultive, à l'état pur, dans une grande boîte de Roux, une bactérie du type entérocoque ou pseudodiphthérique, isolée d'une culture d'uréthrite aiguë où précisément cette bactérie avait paru activer le développement du gonocoque. Cette culture en boîte de Roux est émulsionnée dans 50 cmc. d'eau physiologique stérile, puis laissée 24 heures à l'étuve à 37°. Au bout de ce temps l'autolysat est centrifugé, puis filtré sur bougie Chamberland L³. A des tubes de gélose ordinaire à 3 %, fondue et refroidie vers 45°, on ajoute aseptiquement le filtrat ainsi obtenu dans la proportion de 1 partie de ce dernier pour 3 parties de gélose ; cela fait, on mélange par rotation, on incline les tubes et on les laisse refroidir.

IV. — Facteurs de croissance extraits de champignons.

5° FILTRAT DE MUCOR DE GOY.

Des cultures de *Amylomucor* β (DELEMAR) de 12 à 15 jours, en bouillon de viande glucosé à 1 % (effectuées en flacons d'Erlenmeyer), sont filtrées sur papier-filtre et stérilisées 15 minutes à 120°.

6° GÉLOSE AU SANG ET AU FILTRAT DE MUCOR DE TEMPÉ.

1° Une culture de mucor en bouillon glucosé de 12 jours est filtrée, puis chauffée 20 minutes à 110-115°.

2° On prélève, soit chez l'homme, par ponction au pli du coude, soit chez le mouton par ponction de la carotide, du sang directement dans des flacons contenant 4 parties d'eau distillée pour une partie de sang à recueillir. Le sang est placé 24 heures à la glacière.

Le caillot qui se forme se dépose, on ne prélève que la partie surnageante.

A 10 cmc. de gélose-foie fondue et maintenue à 55° on ajoute 1 cmc. de filtrat de mucor chauffé à 110-115° pendant 20 minutes et 1 cmc. de sang laqué, obtenu par hémolyse de 1 partie de sang dans 4 parties d'eau distillée. On mélange et on incline. Pour éviter deux opérations, on peut, au préalable, mélanger à parties égales le sang dilué au filtrat de mucor chauffé et ajouter ensuite 2 cmc. du mélange sang-mucor à la gélose.

Les milieux peuvent être conservés à la glacière pendant une quinzaine de jours, en prenant la précaution de les fermer avec un bouchon de caoutchouc.

Avant l'ensemencement les milieux sont portés à 37°.

V. — **Facteurs de croissance extraits
de tissus végétaux.**

7° EAU DE POMME DE TERRE DE KOLLATH.

Des pommes de terre fraîches sont lavées, pelées et, après un nouveau lavage dans l'eau de conduite ordinaire, brûlées avec un bec Bunsen. Ces pommes de terre brûlées sont coupées en tranches minces dans une boîte de Pétri, de façon à offrir la plus grande surface possible, et les tranches sont placées dans des flacons d'Erlenmeyer avec un volume double d'eau distillée stérile. On fait bouillir ces flacons au bain-marie pendant 5 minutes pour

chasser les germes de l'air. L'extrait dans l'eau distillée, faible dans les premiers jours, devient plus actif plus tard. L'extrait employé peut être remplacé en substituant à la quantité prélevée une quantité égale d'eau distillée.

Toutes les pommes de terre ne conviennent pas pour donner de bons extraits. Les meilleures semblent être les pommes de terre jaunes quelque peu savonneuses. Les vieilles pommes de terre ne conviennent pas.

La solution n'est pas susceptible, dans les premiers jours, de favoriser la culture du B. de Pfeiffer. Il faut que les facteurs de croissance aient diffusé dans le liquide.

Une légère réaction acide paraît favorable, car l'addition d'une certaine quantité d'alcali détruit facilement l'activité du facteur de croissance. Il est donc indiqué, en raison de cette réaction acide, d'utiliser de la gélose un peu plus alcaline que pour les plaques de Levinthal (pH : environ 7,4 — 7,6).

L'eau de pommes de terre, filtrée à travers une bougie Berkefeld, conserve toute son activité.

8° MILIEU RÉACTIF DU FACTEUR V, D'APRÈS KOLLATH.

Pour rechercher la présence du facteur V de Thjötta et Avery dans des sucs ou des tissus végétaux, KOLLATH prépare un milieu au sang contenant le facteur X, mais très dilué, de façon que, pratiquement, ce milieu ne contienne plus de facteur V. L'absence de facteur V est révélée, par l'impossibilité de cultiver le B. de Pfeiffer sur ce milieu.

Si, donc, le suc d'un végétal ajouté à ce milieu permet la culture de B. de Pfeiffer, c'est que ce suc contient le facteur V.

KOLLATH lave soigneusement (pour enlever le sérum qui a des propriétés empêchantes) des globules rouges de cheval. Il les hémolyse par l'eau distillée. Il mêle la solution de sang, dans des proportions variées, à des tubes de 10 cmc. de gélose à 2 %. Ebullition 10 minutes. Il titre l'activité de cette solution de sang, en notant la plus petite quantité de solution qui donne des colonies

de B. de Pfeiffer visibles à la loupe. Si une quantité de solution sanguine qui ne donne plus de colonies est réactivée par l'addition de 2-cmc. par exemple de suc ou d'extrait de plantes, on conclut que cette plante contient le facteur V de Thjötta et Avery, principe activant le facteur X du sang.

9° MILIEU A LA FARINE DE POIS (TRYPAGÁR) DE M. H. GORDON
ET T. G. M. HINE.

1. *Extrait de farine de pois verts.*

Farine de pois verts.....	100 gr.
Sel.....	100 gr.
Eau distillée	1.000 cc.

Mesurer et faire bouillir une demi-heure en agitant de temps en temps. Laisser déposer, filtrer, stériliser et étiqueter : « extrait salé de pois ». Cet extrait de pois sera fraîchement préparé pour chaque manipulation.

2. *Bouillon trypsinisé de Douglas.*

Cœur de veau frais.....	500 gr.
Eau distillée	1.000 cc.

Alcaliniser légèrement au tournesol avec une solution de potasse à 20 %. Chauffer doucement jusqu'à 75 ou 80° pendant 5 minutes. Refroidir à 37°, ajouter le « liquor trypsinæ » de Allen et Hanburys dans la proportion de 1 %. Maintenir à une température de 37° pendant 2 h. 1/2 ou 3 heures. Quand la digestion est terminée, rechercher la réaction de la peptone par le sulfate de cuivre et la soude, comme il est indiqué ci-dessous. Rendre la réaction légèrement acide avec l'acide acétique glacial et porter doucement le tout à l'ébullition pendant 1/4 d'heure. Laisser reposer une nuit au frais et décanner le lendemain le liquide clair. Rendre de nouveau légèrement alcalin au tournesol et stériliser à l'autoclave à 118°, une heure, pendant deux jours, si le milieu n'est pas employé immédiatement.

3. *Gélose en fibres.*

Peser la quantité nécessaire, couper en petits morceaux avec des ciseaux, placer dans un grand flacon et laver deux fois rapidement dans l'eau. Egoutter soigneusement. Ajouter de l'eau, juste pour couvrir, puis de l'acide acétique glacial dans la proportion de 2 cmc. 5 par litre d'eau. Laisser reposer un quart d'heure. Rejeter le liquide et laver soigneusement 4 à 5 fois pour être sûr que tout l'acide acétique a été enlevé. Bien égoutter.

PRÉPARATION DU TRYPAGAR. — Prendre une certaine quantité de bouillon trypsinisé. Ajouter 2 % de gélose en fibres et 0 gr. 125 de chlorure de calcium par litre. Chauffer à l'autoclave à 118°, 3/4 d'heure, pour dissoudre la gélose. Au cours de l'ébullition, titrer avec de la potasse N/10 en employant la phénolphtaléine comme indicateur et ajouter la quantité nécessaire de la solution normale de potasse pour avoir une réaction absolument neutre. Refroidir à 60°. Ajouter 2 blancs d'œuf par litre ; chauffer à l'autoclave, à nouveau, à 118° pendant 75 minutes, ou bien à la vapeur fluente pendant 2 heures. Filtrer, ajouter au filtrat 5 % de l'extrait stérile de farine de pois et stériliser de la façon ordinaire.

Réaction du biuret pour la peptone.

Prendre 5 cmc. de bouillon. Ajouter 0 cmc. 1 d'une solution à 5 % de sulfate de cuivre. Mélanger puis ajouter 5 cmc. de la solution normale de soude. Une couleur rose franche indique une digestion tryptique suffisante ; une teinte pourpre bleuâtre montre que la digestion est insuffisante.

10° MILIEUX A L'AMIDON DE BLAIZOT.

a) *Milieu VT d'entretien.*

Jeter 500 grammes de viande de bœuf hachée dans 1.100 grammes d'eau de conduite ; faire macérer six heures à l'étuve à 37° ; filtrer

sur torchon, exprimer le hachis ; faire bouillir le filtrat ; le filtrer sur papier Chardin. Reprendre ce second filtrat, le compléter à 1 litre par de l'eau de conduite, ajouter 5 grammes de NaCL et 20 grammes de peptone (Chapoteaut ou marque similaire). Neutraliser, puis alcaliniser en ajoutant 7,5 cmc. d'une solution de NaOH 4/100.

Chauffer ce bouillon jusqu'à ébullition. Délayer dans une petite capsule 10 grammes d'amidon avec quelques centimètres cubes d'eau distillée. Au moment où le bouillon arrive à l'ébullition, on lui ajoute le contenu de la capsule et on maintient l'ébullition une minute. On ajoute au bouillon 2,5 grammes de gélose. On porte à l'autoclave pour fondre la gélose, on répartit en tubes et on stérilise. Les tubes sont maintenus verticalement à la sortie de l'autoclave ; la gélose ainsi diluée reste molle après refroidissement.

b) *Milieu de récolte.*

On incorpore au milieu précédent 3 % de gélose ; on coule en boîte de Roux. Au moment de l'emploi, on ajoute à chaque boîte de Roux 10 cmc. de bouillon-viande-peptone et onensemence. Les microbes se développent abondamment à la surface de la gélose, dans la légère lame de bouillon qui recouvre cette dernière.

c) *Milieu à l'amidon-haricots, sans viande.*

C'est encore un milieu de récolte, mais un peu moins bon que le précédent. Il a surtout été créé en vue de l'économie. On fait tremper 100 grammes de haricots dans un peu d'eau, durant une nuit à l'étuve à 37°. Le lendemain, on les chauffe 20 minutes à l'autoclave dans la même eau. On les passe au presse-purée, on émulsionne la purée dans un litre d'eau bouillante. On laisse refroidir, on filtre. On complète à 1.000 centimètres cubes par addition d'eau. On ajoute 20 grammes de peptone et 5 grammes de NaCL. On neutralise, puis alcalinise par addition de 7,5 centimètres cubes de Na OH. On ajoute 10 grammes d'amidon (*v. supra*) et 30 grammes de gélose. On coule en boîtes de Roux.

Les cultures sont faites sur gélose recouverte d'une mince lame du même bouillon de haricots. La récolte est certainement moins abondante que dans le même milieu à la viande. Au total, l'économie est notable.

VI. — Facteurs de croissance extraits de tissus animaux (Sang).

11° GÉLOSE SANGLANTE DE PFEIFFER. MÉTHODE MODIFIÉE DE J.-B. GISCARD.

La méthode classique consiste à étaler à la surface d'une gélose ordinaire, préalablement coulée et solidifiée en tubes ou en boîtes de Pétri, quelques gouttes de sang humain pur et frais.

GISCARD a obtenu de meilleurs résultats en modifiant légèrement la technique. Au lieu de répandre directement, à la surface de la gélose, du sang total et frais, c'est-à-dire dès la sortie des vaisseaux, il n'utilise le sang humain qu'une fois défibriné et laissé vingt-quatre heures à la glacière, ou même à la température ordinaire. Il procède ainsi :

Prélèvement du sang par ponction veineuse au pli du coude au moyen d'une seringue en verre de 20-30 cmc. La seringue, munie de son aiguille et ainsi prête à servir, a été préalablement stérilisée à l'autoclave dans un gros tube en verre bouché à l'ouate.

Après ponction aseptique et aspiration du sang, celui-ci est immédiatement refoulé dans un ballon à défibriner, flambé avec ses perles de verre.

Avoir soin, dans cette dernière opération, de faire passer le sang non par l'aiguille qu'on aurait laissée montée sur la seringue, mais directement par la tubulure de la seringue après l'avoir l'avoir dégagée de l'embout métallique. C'est une précaution de plus pour assurer une asepsie qui doit demeurer rigoureuse pendant toute la série des manipulations.

Rebouché à l'ouate, le ballon est aussitôt agité pour la défibration du sang. Lorsque l'opération est jugée suffisante, ce ballon.

est abandonné tel quel à la glacière, ou encore à la chambre. Dès le lendemain on pourra continuer la préparation du milieu, mais on peut également laisser le sang en réserve, dans ce ballon, à la glacière ou à la température ordinaire, pour ne l'employer que plusieurs jours après, sans qu'il en soit nullement altéré. En tout cas, au moment d'utiliser ce sang défibriné, on aura soin d'agiter à nouveau le ballon pour bien mélanger le liquide surnageant avec les hématies. Cela fait, le sang défibriné, aspiré dans une pipette à boule stérile et de dimension convenable, est réparti dans les tubes de gélose au bouillon peptoné, préalablement inclinée, à raison de V à VIII gouttes par tube. Dans cette opération, le tube est maintenu légèrement incliné et on laissera courir les gouttes de sang sur la surface de la gélose. Ce n'est qu'à la fin de la répartition que le sang de chaque tube est promené avec soin sur toute la surface de la gélose en imprimant au tube des mouvements convenables, et en évitant de faire aller sur ses parois le sang qui laisserait un enduit très gênant pour l'examen de la culture ultérieure. Cela fait, le tube est laissé un moment dans la position inclinée, tandis que le sang recouvre d'une mince couche uniforme la surface de la gélose, puis il est relevé verticalement sans se préoccuper si le sang défibriné revient au fond du tube où s'accumulera également l'eau de condensation. Après épreuve de stérilité à l'étuve, les tubes de gélose sanglante sont encapuchonnés et conservés *verticalement* dans des tambours.

Au moment d'ensemencer sur un tel milieu, on aura soin de procéder, un instant auparavant, à un nouvel étalement, sur la gélose, du sang accumulé au fond du tube, et cela de la même façon que la première fois, en insistant un peu plus, car, ici, les hématies ou leurs débris se sont de nouveau séparés du liquide pour gagner la partie la plus déclive du tube. Aussi, ce mélange des globules rouges plus ou moins détruits, et de la partie liquide surnageante, devra-t-il être bien homogène avant de cesser l'étalement et de relever le tube (1). Cette fois encore, dès le tube revenu vertical, la plus

1. Pour faciliter cette manœuvre, par les temps froids, il est recommandé de chauffer légèrement le tube à la flamme.

grande partie du sang défibriné s'accumulera au fond du tube. Il n'y a pas lieu de s'en alarmer : pour si faible que soit la quantité de sang restée adhérente à la surface de la gélose, elle est très suffisante, le sang paraissant agir dans ce milieu en tant qu'hormone de croissance, plutôt qu'en apportant des matériaux nutritifs, soin qui est ici laissé à la gélose-bouillon peptoné.

L'ensemencement peut être pratiqué dès que tout l'excès du liquide sanguin, que l'on vient d'étaler à la surface de la gélose, a regagné le fond.

En général, il ne persiste alors à la surface du milieu qu'un mince enduit rosé qui n'enlève pas à la gélose sa transparence et ne gêne en rien l'examen des cultures. Bien plus, chaque colonie de gonocoque semble, en se développant, écarter le sang qui l'environne et, tandis qu'elle repose ainsi sur la surface claire et transparente de la gélose, elle s'entoure d'un mince liseré rouge d'hématies qui facilite beaucoup son repérage. Cette particularité est un grand avantage que possède cette préparation sur tous les autres milieux au sang qui, comme on le sait, sont absolument opaques.

En somme l'on voit qu'entre la gélose sanglante de PFEIFFER et la gélose sanglante de GISCARD, il y a une différence assez sensible : tandis que dans la première méthode on étend une fois pour toutes, à la surface d'une gélose, quelques gouttes de sang total qui se coagule sur place, dans la deuxième on imprègne cette même surface nutritive d'un liquide qui est en quelque sorte une solution concentrée de substances activantes et cela juste au moment de l'emploi.

Les tubes de gélose sanglante, encapuchonnés, peuvent se conserver longtemps sans que la valeur du milieu s'amoiendrisse. Le liquide du fond de chaque tube brunit à la longue, puis devient de moins en moins fluide par évaporation de la partie aqueuse. Aussi, avant qu'il soit trop dense, on aura soin de procéder à son étalement qui, celui-là, sera définitif et remplacera celui qu'on aurait pu faire ultérieurement au moment de l'emploi (1). Dans ces conditions, de

1. Si le liquide sanguin du fond du tube était devenu trop visqueux, il suffirait d'ailleurs de le fluidifier par addition de quelques gouttes d'eau physiologique stérile.

vieux tubes arrivés à un état relativement sec donnèrent malgré tout d'excellents résultats.

12° EXTRAIT GLOBULAIRE DE H. AGULHON ET R. LEGROUX.

Passer à travers un linge des globules de mammifères — un caillot peut être utilisé — étendre le liquide passé de 4 volumes d'eau physiologique (9 gr. de sel p. 1000), mélanger, chauffer lentement à 75° en agitant régulièrement dès que la température approche de 65°, maintenir à 75° pendant 15 minutes, filtrer sur papier, clarifier et stériliser par filtration à la bougie Chamberland F. Répartir en tubes stérilisés.

L'extrait globulaire filtré sera laissé en tubes bouchés à l'ouate.

Les solutions obtenues par cette méthode, ajoutées aux milieux de culture usuels à la dose de 5 à 10 pour 100, permettent d'obtenir d'abondantes cultures de B. de Pfeiffer. A doses faibles (1 %), on obtient encore des résultats positifs, mais les cultures se développent lentement et sont moins épaisses ; les colonies restent petites.

Les sangs d'oiseaux, d'anguille, de cheval donnent les mêmes résultats.

L'extrait globulaire peut être ajouté aux milieux nutritifs liquides, être incorporé à de la gélose fondue ou à de la gélatine fondue, être répandu à la surface de tubes ou de boîtes de gélose ou de gélatine ayant fait prise. On l'associe parfois au sérum liquide.

13° SUCCÉDANÉ DE L'ASCITE DE LEGROUX.

Ce succédané de l'ascite, ajouté aux milieux usuels, permet d'obtenir facilement la culture des méningocoques, il donne d'abondantes récoltes avec quelques bactéries telles que le pneumocoque et le streptocoque. Il est d'une confection aisée, peu coûteuse, et, sauf pour l'isolement du gonocoque, remplace l'ascite humaine.

On peut employer un sérum de bœuf, de cheval ou d'un autre

animal ; ce sérum peut être recueilli sans précautions d'asepsie ; on le décante lorsqu'il est limpide.

Préparation :

Sérum.....	600 cmc.
Formol du commerce	1 cmc.

agiter pour bien mélanger, puis étendre avec

Eau distillée	1.200 cmc.
---------------------	------------

cette eau est parfois acide au rouge de méthyle et même au tournesol, ce qui est loin d'être nuisible. Répartir après mélange, en tubes, en ampoules ou en ballons, et stériliser à l'autoclave à 112°, 115° un temps variable suivant le volume contenu dans les paniers.

Pour constituer les milieux de culture, ajouter par tube (contenant 7 à 8 cmc.) de milieu usuel, 1 cmc. du sérum formolé ; il est inutile et même nuisible d'en mettre une plus grande quantité.

VII. — Facteurs de croissance extraits d'autres substances animales.

14° MILIEU AU JAUNE D'ŒUF, DE BESREDKA.

Prenons vingt œufs. Réunissons leurs jaunes (350 cmc.) dans un grand verre à pied et ajoutons un litre d'eau distillée. L'eau doit être pure et avoir une réaction neutre ; dans le cas où elle serait acide, on commence par la neutraliser.

Reste à clarifier l'émulsion au moyen d'une solution de soude à 1 p. 100. Ce temps est le plus délicat de la préparation ; l'excès de soude rend le milieu impropre à la culture, le défaut de soude nuit à la transparence du milieu.

On évite ces écueils en versant d'abord une quantité de soude égale à la moitié de la quantité de jaunes réunis ; ainsi, à 350 cmc. de jaunes on ajoute — par petites portions — 175 cmc. de solution de soude à 1 p. 100. On s'arrête un moment pour s'assurer du degré de la solubilisation ainsi réalisée ; puis, on procède à de petites

additions de 1 à 1 cmc. 5 de soude, en aspirant chaque fois le jaune dans une pipette: On suit de la sorte la clarification; celle-ci est arrivée au point optimum lorsque le liquide apparaît transparent en couche mince, dans la pipette par exemple, et qu'il reste légèrement opaque en couche épaisse, vu à travers les parois du verre à pied. Une dizaine de centimètres cubes ajoutés aux 175 cmc. précédemment versés y suffisent généralement.

Avec de l'eau distillée on complète jusqu'à obtenir — dans le cas particulier — sept litres de liquide, dans lequel le jaune est représenté dans la proportion de 1 : 20 ($350 : 7000 = 1 : 20$). Le milieu est réparti en boîtes de Roux (50 à 150 cmc.) et stérilisé à 110° pendant vingt minutes.

Il est bon d'être prévenu que la quantité de soude nécessaire pour dissoudre le jaune d'œuf n'est pas toujours la même; ainsi, nous avons rencontré des jaunes dont la dissolution demandait presque deux fois moins de soude que la quantité que nous venons d'indiquer.

15° MILIEU A L'ŒUF COMPLET, DE F. M. HUNTOON.

Bœuf haché (cœur ou muscle aussi frais que possible).....	500 gr.
Peptone Bacto (marque américaine).....	10 gr.
Gélose (après l'avoir pesée, la mettre à gonfler dans l'eau)....	16 gr.
Sel	5 gr.
Œuf complet	1 gr.
Eau	1.000 gr.

Chauffer en remuant jusqu'à 68° (pas plus haut), alcaliniser faiblement au tournesol, ajouter alors 1 cmc. de soude normale par litre. Chauffer au bain-marie à 100° 1 heure, décantier alors le liquide du coagulum formé en s'aidant d'une baguette de verre, réchauffer le liquide trente minutes à 100°. Laisser refroidir 10 minutes dans une position inclinée, séparer la portion liquide en l'aspirant dans une pipette à boule. Placer alors le liquide dans une éprouvette cylindrique pour 15 à 20 minutes jusqu'à ce que la graisse présente se soit solidifiée à la surface et puisse être enlevée. Répartir, stériliser à 100°. Si le milieu est par trop trouble, clarifier

par sédimentation ou centrifugation, ou filtrer sur coton de verre ou amiante cardée.

16° GÉLOSE AU TESTICULE DE TAUREAU FRAIS, DE J.-B. GISCARD.

Hâcher 250 grammes de testicule de taureau (1) après avoir enlevé la vaginale. Mettre le hachis à macérer dans 500 cmc. d'eau ordinaire pendant 24 heures. Puis, filtrer cette macération sur papier Chardin d'abord, sur bougie L³ ensuite (Giscard se sert de filtres de Martin, dits « pour essais », grand modèle). Le filtrat, une fois éprouvé 24 heures à l'étuve, est ensuite réparti aseptiquement dans des tubes contenant de la gélose nutritive ordinaire à 3 %, de réaction neutre, préalablement stérilisée et maintenue en surfusion vers 45°-50°.

Le mélange est fait dans la proportion de 1 partie de filtrat pour 3 parties de gélose. Homogénéiser le contenu de chaque tube par rotation. Incliner.

1. On peut se contenter d'opérer sur une petite quantité de testicule, car, dans cette formule, la macération de testicule ne rentre qu'en faible proportion dans chaque tube de milieu.

Vu : le Président de la thèse,

A. LEMIERRE.

Vu : pour le Doyen,

l'Assesseur,

BALTHAZARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris.

CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ET OUVRAGES CONSULTÉS.

- ABDERHALDEN et KÖLHER (K.). — Die Wirkungsweise einer in Alkohol löslichen Substanz, während der alkoholischen Gärung durch Hefe gebildet, auf niedrigere Organismen. *Arch. d. ges. Physiol.*, t. 176, 1919, p. 209.
- AGULHON (H.) et LEGROUX (R.). — Contribution à l'étude des vitamines utilisables à la culture des microorganismes. Application au B. de l'influenza (B. de Pfeiffer). *C. R. Ac. Sc.*, t. 147, 21 octobre 1918, p. 597.
- ALLEN. — The bacillus influenzae and symbiosis. *The Lancet*, t. I, 1910, fasc. 19.
- AMAND (Abel). — Le « bios » de Wildiers ne joue pas le rôle d'un contre-poison. *La Cellule*, t. 20, 1902, p. 225; t. 21, 1904, p. 324.
- ARSONVAL (d') et CHARRIN. — Concurrence vitale entre le B. pyocyanique et la levure de bière. *C. R. Soc. de Biol.*, 1893, pp. 37, 70, 121, 337.
- ATLASSOFF. — La fièvre typhoïde expérimentale. *Annales Institut Pasteur*, t. 18, 1904, p. 701.
- AVERY (O. T.) et MORGAN (Hugh J.). — The effect of the accessory substances of plant tissue upon growth of bacteria. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine*, t. XIX, 1921-1922, pp. 113-114.
- AYERS (S. H.) et RUPP (P.). — Extracts of pure dry yeast for culture medium. *Journ. of Bact.*, t. 5, 1920, p. 89.
- AYERS (S. H.) et MUDGE (Courtland S.). — The relation of vitamine to the growth of a streptococcus. *J. of Bact.*, t. VII, septembre 1922, pp. 449-464.

- BABÈS (V.). — Sur les associations bactériennes du bacille de la tuberculose. *Congrès pour l'Etude de la Tuberculose*, 1888, p. 542.
- BERNHEIM (J.). — Ueber die Mischinfektion bei Diphtherie. Klinische und experimentelle Untersuchungen. *Zeitschr. f. Hygiene*, t. 18, 1895, p. 529.
- BERTRAND (Gabriel). — Etudes biologiques sur la bactérie du sorbose. *Ann. de Chimie et de Physique* (8), t. 3, 1904, p. 121.
- BESREDKA (A.) et JUPILLE (F.). — Le bouillon à l'œuf. *Annales Institut Pasteur*, t. 27, 1913, pp. 1009-1017.
- La gélose à l'œuf. *Annales Institut Pasteur*, t. 28, 1914, pp. 576-578.
- BESREDKA (A.). — Culture des bacilles tuberculeux dans du jaune d'œuf. *Annales Institut Pasteur*, t. 35, 1921, pp. 291-293.
- BEZANÇON (F.), GRIFFON (V.) et LE SOURD (L.). — Culture du bacille du chancre mou. *C. R. Soc. Biol.*, 8 décembre 1900.
- BIELING (R.). — Versuche über die Bildung von Vitamin durch Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. 104, 1925, p. 348.
- BIENSTOCK. — Anaérobies et symbiose. *Annales Institut Pasteur*, t. 17, 1903, pp. 850-856.
- BILLA. — *La strepto-diphthérie expérimentale*. Thèse Médecine. Lyon, 1923.
- BLAIZOT (L.) — Milieux à l'amidon stérilisables en une fois, employés à l'Institut Pasteur de Tunis pour la culture du gonocoque. *Arch. des Inst. Pasteur de l'Afrique du Nord*, t. I, 1921, p. 198.
- BLANC (F. C. J.). — *Huile de foie de morue et tuberculose (Quelques recherches relatives à l'action de l'huile de foie de morue sur le bacille tuberculeux)*. Thèse Médecine, Bordeaux, 1926.
- BLOCH (W.) et SOMMERFELD (P.). — Beiträge zur Pathogenität des Löffler-Bacillus. *Arch. für Kinderheilkunde*, t. 28, 1900, pp. 40-61.
- BORREL (A.) BOEZ, L.) et DE COULON. — Facteurs accessoires de la croissance du bacille tuberculeux, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, 8 juin 1923, p. 191.
- BOTTOMLEY (W. B.). — Some accessory factors in plant growth nutrition. *Proceed. of the roy. Soc. S. B.*, t. 88, n° B. 602, 15 septembre 1914, pp. 237-247.

- BOTTOMLEY (W. B.) — A bacterial test for plant food accessories (auximones). *Proceed. of the roy. Soc. S. B*, t. 89, n° B 610, 2 août 1915, pp. 102-108.
- Isolation from peat of certain nucleic acid derivatives. *Proc. r. Soc.*, Série B, t. 90, 1917, p. 39.
- BOYER (L.) — Un nouveau milieu de culture, particulièrement adapté au développement du *Streptocoque pyogène*. *C. R. Soc. Biol.*, t. 81, 1918, p. 229.
- BRAUN (H.) et CAHN-BRONNER (C. E.) — Ueber die synthetischen Fähigkeiten pathogener Bakterien und ihr biologisches Verhalten unter einfachen Ernährungsbedingungen. III Mitteilung. Die Bedeutung des Stoffwechsels für die Entbehrlichkeit oder Unentbehrlichkeit des Sauerstoffes. *Centralbl. f. Bakt.*, I, t. LXXXVI, 1921, p. 380.
- BROADHURST (J.) — Effect of vitamine extract in reviving old cultures. *Abstr. Bact.*, t. 5, 1921, p. 3.
- BROWN (James Howard) et ORCUTT (Marion L.) — A rapid differential method for the isolation of *Bacillus influenzae*. *Journ. of exper. med.*, t. XXVIII, 1^{er} nov. 1918, p. 659, 1 pl.
- BUNKER (I. W.) — Studies on the diphtheria bacillus in culture. *J. of Bacteriol.*, t. 4, 1919, p. 379.
- CALKINS (G. W.), EDDY (W. H.) — The action of pancreatic vitamine upon the metabolic activity of *Paramecium*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, t. 14, 1917, p. 162. •
- CANTANI (A.) — *Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Ref.*, t. 28, 1900, p. 743; *Ibid.*, t. 32, p. 692.
- CANTANI (A.) — Ueber das Wachstum des Influenza-bacillus auf haemoglobinfreien Nährboden. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. 36, 1901, p. 29.
- CHAMBERS (Mary H.) — The Effect of some Food Hormones and Glandular Products on the Rate of Growth of *Paramecium caudatum*. *Biol. Bull.*, t. XXXVI, f. 2, févr. 1919, pp. 82-91.
- CLEGG (M. T.) — Some experiments on the cultivations of *Bacillus leprae*. *Philippine J. of Science*, t. 4, 1909, p. 403.
- COLE (S. W.) et LLOYD (D. J.) — The preparation of solid and liquid media for the cultivation of the gonococcus. *J. of Path. and Bact.*, t. 21, 1916-1917, pp. 267-286.

- CURRIE (James N.). — The citric acid fermentation of *Aspergillus niger*. *J. biol. chem.*, t. 31, 1917, p. 15.
- DAMON (S. R.). — Some observations in regard to growth-promoting substances of bacterial origin. *J. biol. chem.*, t. LVI, 1923, p. 894.
- Some observations in regard to growth-promoting substances of bacterial origin. *J. biol. chem.*, t. LVI, 1923, p. 895.
- DARRAH (Juanita E.). — Composition and nutritive value of yeast grown in vitamine-free media. *Science*, t. 56, 1922, p. 23.
- DAVIS (D. J.). — Food accessory factors (vitamins) in bacterial culture with special reference to hemophilic bacilli. I. *J. of inf. dis.*, octobre 1917, pp. 392-403.
- Food accessory factors (vitamins) in bacterial culture II. *J. of inf. dis.*, t. 23, septembre 1918, p. 248-251.
- The accessory factors in bacterial growth. IV. The « satellite » or symbiosis phenomenon of Pfeiffer's bacillus (*B. influenzae*). *J. of inf. dis.*, t. 29, août 1921, p. 178-186.
- The accessory factors in bacterial growth. V. The value of the satellite (or symbiosis) phenomenon for the classification of hemophilic bacteria. *J. of inf. dis.*, t. 29, août 1921, pp. 187-189.
- DAVIS (L.) et FERRY (S.). — Studies on diptheria toxin. *J. of bact.*, t. 4, 1919, p. 217.
- DEBRAND. — Nouveau procédé de culture du Bacille du tétanos. *Annales Institut Pasteur*, t. 14, 1900, p. 764.
- DEVLOO (R.). — *La Cellule*, t. 23, 1906, p. 36.
- DIENERT (F.) et GUILLERD (A.). — Milieu à l'eau de levure autolysée pour la culture du *B. coli*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 168, 27 janvier 1919, pp. 256-257.
- DOUGLAS, FLEMING et COLEBROOK. — Studies in wound infections on the question of bacterial symbiosis in wound infections. *The Lancet*, t. 5, 1918, pp. 604-607.
- DUCLAUX (E.). — *Traité de microbiologie*. Masson, éd., 4 vol.
- DURAND (Paul). — Technique de l'isolement du strepto-bacille de Ducrey. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCIV, 1926, p. 1324.
- Présence constante du strepto-bacille de Ducrey dans le pus des bubons. *Ibid.*, t. XCV, 1926, p. 17.

- DUVAL (C. W.). — The cultivation of the leprosy bacillus from the human tissues with special reference to the amino-acids as culture media. *J. of experim. medic.*, t. 13, 1911, p. 365.
- EBERSON (F.). — Yeast mycelium for prolonging the viability of the Meningococcus. *Journ. amer. med. assoc.*, t. 72, 1919, p. 852.
- EDDY (W. H.). HEFT (H. L.). STEVENSON (H. C.) et JOHNSON (Ruth). — The yeast test as a measure of vitamine B. *J. biol. chem.*, t. XLVII, 1921, p. 249.
- EDDY (W. H.), KERR (R. W.) et WILLIAMS (R. R.). — Isolation from autolyzed yeast of a crystalline substance melting at 223° having the properties of a bios. *Journ. amer. chem. Soc.*, t. XLVI, 1924, p. 2846.
- EIJKMAN (C.), VAN HOOGENHUIJZE (C. J. C.) et DERKS (T. J. G.). — The Vitamine Content of Microorganisms in Relation to the Composition of the Culture Medium. *J. biol. chem.*, t. L, 1922, p. 311.
- EMMETT (A. D.) et STOCKHOLM (Mabel). — The relation of the antinevritic and water soluble B. vitamins to the yeast growth promoting stimulus. *J. biol. chem.*, t. XLIII, 1920, p. 288.
- FILDES (P.). — The nature of the effect of blood pigment upon the growth of B. influenzae. *British Journ. of exper. Pathol.*, t. 2, fév. 1921.
- FILDES (Paul) (London Hospital). — The nature of the action of potato upon the growth of B. influenzae. *Brit. Journ. of experim. Pathol.*, t. 3, 1922, p. 210.
- FILDES (P.). — The classification of hemoglobinophilic bacteria based upon their relation to blood pigment and to the vitamine factor. *Brit. Journ. of exp. Pathol.*, t. 4, 1923, p. 265.
- The growth requirements of hemolytic influenza bacilli and the bearing of these upon classification of related organisms. *Brit. Journ. of exp. Pathol.*, t. 5, 1924, p. 69.
- FINCK. — De l'augmentation de toxicité des cultures diphtériques par l'association au B. de Löffler d'une espèce du genre *Actinomyces*. *J. de Physiologie et de Patho. gén.*, 1902, p. 515.
- FLACK (Martin). — Note on the constituent of pea-flour augmenting growth of the Meningococcus on the tryptic agar medium. *Brit. med. Journ.*, 1916, 2° sem., p. 682.

- FLATHER (Mary Drusilla). — The Effects of a Diet of Polished and Unpolished Rice upon the Metabolic Activity of Paramecium. *Biolog. Bull.*, t. XXXVI, janv. 1919, pp. 52-54.
- FLEMING (A.). — On the bacteriology of septic wounds. *The Lancet*, t. 5, 1915, fasc. 2, p. 638.
- FLEMING (W. F.). — Vitamine content of rice by the yeast method. *J. biol. chem.*, t. XLIX, 1921, p. 119.
- FRAENKEL (S.) et SCHWARTZ (E.). — Ueber wasserlösliche Vitamine und Gärungsbeschleunigende Verbindungen. *Biochem. Zeitschr.*, t. 112, 1920, p. 203.
- FRAENKEL (S.) et HAGER (J.). — Ueber die Gärbeschleunigung durch Extrakte tierischer Organe. *Biochem. Zeitschr.*, t. 127, 1922, p. 189.
- FRAENKEL (S.) et SCHARF. — Ueber Gärungsbeschleunigende Extrakte aus Pflanzen. *Biochem. Zeitschr.*, t. 127, 1922, p. 227.
- Ueber Vitamine. — I. Versuche über die Adsorption der Vitamine. *Biochem. Zeitschr.*, t. 127, 1922, p. 265. — II. Weitere Versuche über die Chemie der Vitamine.
- FREEDMAN (L.) et FUNK (C.). — The vitamine requirements of certain yeasts and bacteria. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine*, t. 19, 1921-1922, pp. 198-201.
- Nutritional factors in the growth of yeasts and bacteria. I. Vitamines. *J. of metabolic research.*, t. I, n° 4, avril 1922, pp. 457-468.
- Nutritional factors in the growth of yeasts and bacteria. II. Protein Hydrolysates. *J. of metabolic research.*, t. I, n° 4, avril 1922, pp. 469-480.
- FUJITA (Koshiro). — Ueber die Wirkung von Wirbeltierhormonen auf das Bakterienwachstum. *Centralbl. f. Bakt.*, I, t. 97, 1925, p. 31.
- FULMER (E. I.), NELSON (V. E.) et SHERWOOD (F. F.). — The nutritionla requirements of yeast. The rôle of Vitamines in the growth of yeast (1^{er} mémoire). *J. Amer. Chem. Soc.*, t. 43, 1921, p. 126.
- The effect of the composition of the medium on the growth of yeast (2^e mémoire). *J. Amer. Chem. Soc.*, t. 43, 1921, p. 191.
- FULMER (E. I.) et NELSON (V. E.). — Water-soluble B. and bios in yeast growth *J. biol. chem.*, t. 51, 1922, p. 77.
- FULMER (E. I.), NELSON (V. E.) et WHITE (Anne). — The growth of yeast on a medium of wholly synthetic origin. *Journ. biol. chem.*, t. 57, 1923, p. 397.

- FUNK (C.) et DUBIN (H. E.). — A test for beriberi vitamine and its practical application. *J. biol. chem.*, t. 40, 1920, p. 487.
- Vitamines requirements of certain yeasts and bacteria. *J. biol. chem.*, t. 48, 1921, p. 437.
- FUNK (C.) et FREEDMAN (L.). — The presence of an yeast growthpromoting vitamine in cane-sugar. *J. biol. chem.*, t. 56, 1923, p. 851.
- FUNK (C.). — *Die Vitamine. Ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie*, 3^e édit. Bergmann, édit., Munich, 1924, 522 p..
- FUNK (C.). — L'état actuel de nos connaissances sur les vitamines. *Rev. d'hygiène*, t. 49, août 1927, p. 561-580.
- GATÉ (J.), PAPACOSTAS (G.) et BILLA (M.). — Recherches sur les associations microbiennes : streptocoque et bacille diphtérique. *C. R. Soc. de Biol.*, t. 89, 9 juillet 1923, p. 524.
- GEHLEN (W.). — Thèse. Erlangen, 1923.
- GHON (A.) et PREYSS (W.). — Studien zur Biologie des Influenzabacillus. *Centralbl. f. Bakt. I. Orig.*, t. 32, 1902, p. 90.
- GIBIER (P.). — Description d'un procédé permettant d'obtenir une toxine diphtérique extratoxique. *C. R. Soc. Biol.*, 1897, p. 393.
- GISCARD (J. B.). — *Contribution au diagnostic de guérison de la blennorragie. Gonococcisme latent et culture du sperme*. Thèse Médecine. Toulouse, 1923, p. 333.
- GORDON (M. H.) et HINE (T. G. M.), avec une note de MARTIN FLACK. — An experimental study of the cultural requirements of the meningococcus. *Brit. Med. J.*, 18 novembre 1916, pp. 678-684.
- GOY (P.). — *Les facteurs accessoires de la croissance chez les végétaux inférieurs*. Thèse. Sciences. Paris, 1921.
- Les végétaux inférieurs et les facteurs accessoires de la croissance. *C. R. Ac. Sc.*, t. 172, 24 janvier 1921, p. 242.
- Physiologie microbienne et facteur accessoire de la croissance. *C. R. Ac. Sc.*, t. 174, 12 juin 1922, p. 1579.
- Action de filtrat de « Mucor » sur le développement des cultures microbiennes. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, nov. 1922, p. 1.007.
- Microbes et vitamines. *Annales Institut Pasteur*, t. 39, 1925, pp. 183-195.
- GRASSBERGER — Beiträge zur Bakteriologie der Influenza. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. 25, 1897, p. 453.

- HABABOU-SALA (J.). — Isolement du B. de Ducrey. Milieux de culture et préparation d'un vaccin. *C. R. Soc. Biol.*, t. 92, 21 février 1925, p. 498.
- Nouvelles recherches sur le strepto-bacille de Ducrey. *Bull. Soc. franç. Dermat. et Syphil.*, n° 4, avril 1925, p. 11.
 - *Nouvelles recherches sur le chancre mou avec vaccinothérapie locale.* Thèse Médecine Paris, n° 508, 1925.
- HAMMERSCHMIDT (J.). — Ueber den Erreger der Koch-Weekschen Konjunktivitis. *München med. Wochenschr.*, t. 68, 1921, pp. 1246-1247.
- HARDEN (A.) et ZILVA (S. S.). — The synthesis of vitamine B by yeast. (Note préliminaire). *Biochem. Journal*, t. 15, 1921, p. 438.
- HELLER (V. G.). — Studies on yeast. V. The vitamine B content of yeast. *J. biol. chem.*, t. 55, 1923, p. 385
- HILBERT (P.). — Ueber Steigerung der Giftproduction der Diphtheriebacillen bei Symbiose mit Streptokokken. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. 29, 1898, p. 157.
- Ueber Wesen und Bedeutung der Mischinfektion bei Diphtherie und ihre Verhältnis zur Heilserumtherapie. *Deutsch. Arch. für. Klin. Medicin*, 1897, t. 59, p. 248.
- HJORT (J.). — Observations on the distribution of fat-soluble vitamins in marine animals and plants. *Proceed. Roy. Soc.*, t. 93, B., 1922, pp. 440-449.
- HOSOYA (S.) et KUROYA (M.). — Water-soluble vitamine and bacterial growth. *Scientific reports from the Government Institute for Infections diseases. The Tokyo Imperial University*, t. 2, 1923, p. 223. II^e communic. With special reference to the chemical and physical properties of « Vitamine » essential for the growth of hemolytic streptococci. *Ibid.*, p. 265.
- HUNTON (F. M.) et HANNUM. — The role of bacillus influenzae in clinical influenza. *Journ. Immunol.*, t. 4, 1919, pp. 172-173.
- IDE (M.). — Ueber Wildiers Bios. *Centr. f. Bakt. u. Parasit. u. Infekt.*, Abt. 2, Or., t. 18, 1907, p. 193.
- The « bios » of Wildiers and the cultivation of yeast. *J. biol. chem.*, t. 46, 1921, p. 521.
- JACOBY et FRANKENTHAL. — *Biochem. Ztschr.*, t. 122, 1921, p. 100.
- JAMESON (H. L.), DRUMMOND (J. C.) et COWARD (K. H.). — Synthesis of

vitamin A by a marine diatom (*Nitzschia closterium* W. Sm.) growing in pure culture. *Bioch. Journ.*, t. 16, 1922, pp. 482-485.

JENKINS (C. E.) — The serum constituents useful in the cultivation of the gonococcus. A method of sterilising serum; the relative merits of serum and muscle extract. *J. of pathol. a. bact.*, t. 27, 1924, p. 145.

JIMENEZ (J.). — Vitamines dans les milieux de culture. *Siglo Med.*, t. 68, 1921, pp. 310-339.

JOTTEN (K. W.). — *Arb. Reichsgesundheitsamt*, t. 52, 1920, p. 339.

KALKBRENNER. — Beiträge zur Biologie des Influenzabacillus. *Centr. f. Bakt. Or.*, t. 87, 1921, pp. 277-283.

KERMORGANT (Y.). — Sur l'étiologie des oreillons. *C. R. Soc. Biol.*, t. 92, 16 mai 1925.

KLEIN. — Ursachen der Tuberkulinwirkung. *Centralbl. f. Bakt. Or.*, 1893, p. 224.

KLIGLER (I. J.). — Yeast autolysate as a culture medium for bacteria. *J. of Bact.*, t. 4, 1919, p. 183.

— Growth accessory substances for pathogenic bacteria in animal tissues. *J. experim. Med.* t. 30, juillet 1919, pp. 31-34.

KNORR (Maximilian). — Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bacterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus I^{re} et II^e communications. *Centralbl. f. Bakt. I.*, t. 92, 1924, pp. 371-384, 385-392.

— Untersuchungen über einen Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bacterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabacillus. III. Weitere Untersuchungen über die Wirkung von Körperflüssigkeiten und Adsorbentien auf die wachstumsfördernden Stoffe der roten Blutkörperchen. *Centralbl. f. Bakt., I.*, t. 94, 1925, p. 161.

KNORR (M.) et GEHLEN (W.). — Untersuchungen über einen Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Week'sches Bacterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus. IV. Histidinhydrochloridnährmittel zur Züchtung hämophiler Keime. *Centralbl. f. Bakt., I.*, t. 94, 1925, p. 321.

— Untersuchungen über einen Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Week'sches Bacterium) und seine Beziehungen zum

- Pfeifferschen Influenzabazillus. V. Das Wachstum der hämophilen Keime in pflanzlichen Nährmitteln. *Centralbl. f. Bakt.*, t. 95, 1925, p. 295
- KNORR (M.). — Die Entwicklung des Vitamingedankens in der Bakteriologie. *Ergeb. a. Hyg. Bakt. Immunitätsforsch. u. experim. Therapie*, de WEICHARDT, t. 7, 1925, pp. 641-706.
- KOLLATH (W.). — Vitaminähnliche Substanzen in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen (Baz. Pfeiffer). I Mitteilung : Herstellung eines festen vitaminhaltigen Nährbodens und Verhalten der vitaminhaltigen Substanzen in diesem. *Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale*, t. 93, 30 décembre 1924, pp. 506-519.
- Vitaminähnliche Substanzen in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen. II. Die Wachstums-Beeinflussung der Influenzabazillen durch fremde Bakterien und ihre Zusammenhänge mit der Biologie des Influenzabazillus. *Centralbl. f. Bakt., I.*, t. 95, 1925, pp. 158-179.
 - Vitaminähnliche Substanzen in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen (Baz. Pfeiffer) III Mitteilung : Die Rolle des sogenannten X. Faktors für die Biologie der Influenzabazillen. *Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale*, t. 95, 10 juillet 1925, pp. 279-287.
- KOLLATH (W.) et LEICHTENTRITT. — Ueber eine den V. Faktor schädigende Serums substanz im Blut avitaminotischer Tiere, gemessen an den biologischen Veränderungen des Influenza-Bazillus. *Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale*, t. 97, 12 décembre 1925, pp. 65-80.
- Ueber die fragliche Bildung von Vitamin durch Bakterien. *Centralbl. f. Bakt., I.*, t. 97, 1925, p. 119.
- KOLLATH (Werner). — Vitaminsubstanz oder Vitaminwirkung. *Centralbl. f. Bakt., I.*, t. 100, 1926, pp. 96-144.
- Ueber Vitamine und Bakterien. *Klinische Wochenschrift*, t. 5, n° 21, 21 mai 1926, pp. 930-931.
- KORCZYNSKI (L. R.). — Ueber den Einfluss des Tuberkelbacillengifte auf Wachstum und Giftigkeit anderer Bakterien, speziell des *Bacterium coli commune*. *Wien. Klin. Woch.*, t. 18, 1905, p. 29.
- KUNHAU (W.). — Ueber Mischinfektionen mit *Proteus* bei Diphtherie der Halsorgane. *Zeitschr. f. Klin. Medizin*, t. 31, 1897, p. 567.
- KURONO (R.). — Significance of oryzanin for the nutrition of fermentative organisms. *Journ. Coll. Agr. Univers. Tokyo*, t. 5, 1915, p. 305.

- LAMPITT (L. H.). — Nitrogen metabolism in *Saccharomyces cerivisiæ*. *Biochem. Journ.*, t. 13, 1919, p. 459.
- LEGROUX (René). — Succédané du liquide d'ascite pour quelques cultures bactériennes. *C.R. Soc. Biol.*, t. 83, 17 avril 1920, p. 466.
- LEGROUX (René) et MESNARD (Joseph). — Vitamines pour la culture des bactéries. *C. R. Ac. Sc.*, t. 160, p. 901, 12 avril 1920.
- LEGROUX (René) et JIMENEZ (J.). — Facteur de croissance dans les cultures de *Leishmania Donovaní*. *C.R. Ac. Sc.*, t. 163, 19 déc. 1921, p. 1423.
- LEICHTENTRITT (B.) et ZIELAKOWSKI. — Untersuchungen über den wachstumsfördernden Faktor des Citronensaftes. I. Auf welche Weise lässt sich der wachstumsfördernde Faktor in dem Citronensaft für Bakterien durch physikalische, chemische und kolloidchemische Methoden beeinflussen ? *Biochem. Zeitschr.*, t. 131, 1922, p. 499.
- Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der akzessorischen Nährstoffe für das Bakterienwachstum. *Monatsschr. f. Kinderheilk.*, t. 26, 1923, p. 232.
- LEICHTENTRITT (B.) et ZWEIG. — *Jahrb. f. Kinderheilkunde*, t. 166, 1924, p. 65.
- LE SOUDIER (Mlle) et VERGE (J.). — Milieu au blanc d'œuf pour la culture du gonocoque. *C. R. Soc. Biol.*, t. 92, 1925, p. 225.
- LINOSSIER (G.). — Sur le développement de l'*Oidium lactis* en milieux artificiels. Influence de la quantité de semence sur le poids de la récolte. *C.R. Soc. Biol.*, t. 82, 1919, p. 240.
- Les vitamines et les champignons. *C. R. Soc. Biol.*, t. 82, avril 1919, p. 381.
- LINOSSIER (G.). — Les vitamines et les champignons. *C. R. Soc. Biol.*, t. 83, 20 mars 1920, p. 346.
- LLÓYD (D. J.). — On the importance of technical details in the preparation on a transparent blood-agar for the cultivation of the meningococcus. *Brit. med. J.*, 29 juillet 1916, pp. 143-144.
- On the chemical factors involved in the growth of the meningococcus. *Brit. med. J.*, 6 janvier 1917, p. 11.
- LUERSSSEN (A.). — Beiträge zur Biologie des Influenzabacillus. *Centr. f. Bakt., Abt. I. Orig.*, t. 42, 1904, p. 1.
- *Zeitschr. f. Hyg.*, t. 35, 1904, p. 434.

- LUMIÈRE (A.). — Les vitamines sont-elles nécessaires au développement des végétaux ? *C. R. Ac. Sc.*, t. 171, 21 juillet 1920, p. 271.
- Influence des vitamines et des auximones sur la croissance des végétaux. *Annales Institut Pasteur*, t. 35, janvier 1921, pp. 102-123.
- Mc DONALD (Margaret B.) et Mc COLLUM. — The cultivation of yeast in solutions of purified nutrients. *J. biol. Chem.*, t. 45, 1920, p. 307.
- Mc DONALD (Margaret B.). — The synthesis of « Bios » by yeast grown in a solution of purified nutrients. *J. biol. Chem.*, t. 56, 1923, p. 489.
- M'FADYEAN, SHEATHER (A. L.) et EDWARDS (J. J.). — Johne's disease (maladie de Johne). *Journ. of comp. Pathol. a. Therap.*, t. 25, septembre 1912, pp. 217-275.
- MACKENZIE (Wallis, H. L.). — Improvements in bacteriological media. I. A new and efficient substitute for « nutrose ». *Agr. Journ. India.*, t. 12, 1917, p. 621.
- MATTHEWS (John). — On a method of preparing medium for the culture of Pfeiffer's influenza bacillus that gives profuse growth and is to a marked degree selective for this organism. *Lancet*, t. 195, 27 juillet 1918, p. 104.
- MAZÉ (P.). — Chlorose toxique du maïs. La sécrétion interne et la résistance naturelle des végétaux supérieurs aux intoxications et aux maladies parasitaires. *C. R. Soc. Biol.*, t. 79, 1916, p. 1059.
- Recherche d'une solution purement minérale capable d'assurer l'évolution complète du maïs cultivé à l'abri des microbes. *Annales Institut Pasteur*, t. 33, 1919, pp. 139-173.
- METCHNIKOFF (E.). — Recherches sur le choléra et les vibrions, 4^e mémoire. Sur l'immunité et la réceptivité vis-à-vis du choléra intestinal. *Annales Institut Pasteur*, t. 8, 1894, p. 545.
- MEUNIER (H.). — Satellitisme des colonies du B. de Pfeiffer dans les cultures mixtes. *C. R. Soc. Biol.*, 1898, p. 642.
- MILLER (Elizabeth W.). — The effect of certain stimulating substances on the invertase activity of yeast. *J. biol. Chem.*, t. 48, 1921, p. 329.
- MOCKERIDGE (Florence A.). — Some effects of organic growthpromoting-substances (auximones) on the soil organisms concerned in the nitrogen cycle. *Proc. R. Soc.*, Série B, t. 89, 1917, p. 508.
- MORELLO et VACCARI. — Contribution expérimentale à l'étude des associa-

- tions bactériennes dans la tuberculose pulmonaire. *Ann. d. Igiene sperim.*, t. 14, 1904.
- MORINI (L.). — Culture du gonocoque dans la gélatine à la levure de bière *Riv. med.* Napoli, t. 36, 1920, p. 2
- MOSNY (E.). — Recherches sur l'association du Pneumocoque avec le Staphylocoque pyogène doré. *C. R. Soc. Biol.*, 1894, p. 874.
- MUELLER (J. H.). — Observations on bacterial metabolism. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, t. 18, 1920, p. 14.
- MURRAY (T. J.). — Food accessory substances and the nitrite bacteria. *Proc. of the Soc. f. exp. Biol. a. Med.*, t. 20, 1923, p. 301.
- MUSGRAVE. — The influence of symbiosis upon the pathogenicity of microorganisms. *The Philippine Journal of Science*, t. 3, 1908.
- NEISSER (M.). — Ueber die Symbiose des Influenzabacillus. *Deutsch. med. Wochenschr.*, t. 29, 1903, p. 462.
- NELSON (V. E.), FULMER (E. I.) et CESSNA (Ruth). — The nutritional requirements of yeast. The synthesis of watersoluble B. by yeast (3^e mémoire). *J. biol. chem*, t. 46, 1921, p. 77
- NICOLAU (S.) et BANCUIU (A.). — Sur la culture du bacille de Ducrey. *Soc. roumaine Biol.*, 13 janv. 1926, in *C. R. Soc. Biol*, t. 95, 1926, p. 146
- Recherches biologiques sur le streptobacille de Ducrey *Soc. roumaine Biol.* in *C. R. Soc. Biol.*, t. 95, 1926, p. 409.
- NICOLLE (Charles). — Isolement, culture et conservation dans les laboratoires du Streptobacille du chancre mou. *C. R. Soc. Biol.*, t. 88, 14 avril 1923, p. 871.
- NOBÉCOURT (P.). — Action *in vitro* des levures sur les microbes. *C. R. Soc. Biol.*, 1900, p. 753.
- Action des levures sur la virulence du bacille de Löffler et sur la toxine diphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 1900, p. 755.
- NOGUCHI (H.). — A method for the pure cultivation of pathogenic *Treponema pallidum* (*Spirochæte pallida*). *Journ. exp. med.*, t. 14, 1911, p. 99.
- NOVY (F. G.). — Ein neuer anaérober Bacillus des malignes œdems. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. 17, 1894, p. 209.
- OLSEN (Otto). — Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazil-

- lus während der Grippepandemie 1918-1920. II. 6. Ueber die Bedeutung des Blutes für das Wachstum des Pfeifferschen Influenzabazillus. *Centralbl. f. Bakt.*, I, t. 85, 1920, p. 12.
- PAPACOSTAS (G.) et GATÉ (J.). — *Les Associations microbiennes. Leurs applications pratiques.* Encyclop. scientif., G. Doin édit., 1928, p. 438.
- PASTEUR (L.). — Nouveaux faits concernant l'histoire de la fermentation alcoolique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 47, 20 déc. 1858, pp. 104-1013 ; *Œuvres*, t. 2, pp. 31-32.
- Mémoire sur la fermentation appelée lactique. *Mém. de la Soc. des Sc. de l'Agric. et des Arts de Lille*, séance du 3 août 1857, 2^e S., V, 1858, pp. 13-26. *Ann. Chimie et Physique*, 3^e S., t. 52, 1858, pp. 404-418. *Œuvres*, t. II, p. 12.
 - Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Ann. Chimie et Physique*, 3^e S., t. 58, 1860, pp. 323-426 ; *Œuvres*, t. 2, pp. 50-126 (spécialement, pp. 94-97).
 - Note sur un mémoire de M. Liebig, relatif aux fermentations. *C. R. Ac. Sc.*, t. 73, 18 déc. 1871, pp. 1419-1424 ; *Œuvres*, t. 2, pp. 361-366 (spécialement p. 363).
- PFEIFFER (R.). — Die Aetiologie der Influenza. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, t. 13, 1892.
- PFEIFFER (R.) et BECK (M.). — Weitere Mitteilungen über den Erreger der Influenza. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1893, n° 21.
- PORTIER (P.) et RANDOIN (Mme Lucie). — Création de vitamines dans l'intestin des lapins recevant une nourriture stérilisée à haute température. *C. R. Ac. Sc.*, t. 160, 23 févr. 1920, p. 478.
- PRINGSHEIM (H.H.). — *Centralbl. f. Bakt.* II. Abt., t. 16, 1916, p. 111.
- PRIP. — *Studier over Blandings infectioner ved Difteri.* Thèse Copenhague, 1900.
- PROCA. — Sur l'emploi de milieux bactériens stérilisés pour la culture des anaérobies. *C. R. Soc. Biol.*, t. 63, 7 décembre 1907, p. 620.
- Sur quelques particularités du bacille fusiforme cultivé en symbiose, *C. R. Soc. Biol.*, t. 64, 1908, p. 777.
- PUTNAM (J.) et GAY (D.). — Behavior of the influenza Bacillus in mixed culture on hemoglobin-free media. *Jl of med. research*, t. 42, 1920, p. 1.
- RAMOND (A.-F.). — *Action de la bile sur quelques bactéries.* Thèse Médecine. Bordeaux, n° 66, 1922-1923.

RANDOIN (L.) et LECOQ (R.). — Les vitamines hydro-solubles B contenues dans la levure de bière existent-elles préalablement dans le milieu de culture? *C. R. Ac. Sc.*, t. 182, 21 juin 1926, p. 1564.

RANDOIN (L.) et SIMONNET (H.). — *Les données et les inconnues du problème alimentaire. II. La question des vitamines.* Presses universitaires de France, 1927, 480 p.

RAULIN (J.). — *Etudes chimiques sur la végétation.* Thèse Sciences, Paris, 1870.

REITH (A. F.). — Growth of Pfeiffer Bacillus in mixed culture in blood-free medium. *Jl of infect. Dis.*, t. 32, 1923, p. 243.

RENON. — Action du Colibacille sur le Bacille-virgule. *C. R. Soc. Biol.*, 1897, p. 417.

ROBERTSON (Thornburn Brailsford). — Experimental studies on cellular multiplication. I. The multiplication of isolated infusoria. *Biochem. Journ.*, t. 15, 1921, p. 595.

ROBERTSON (R. C.) et DAVIS (D. J.). — Food accessory factors (vitamins) in bacterial growth. VII: Observations on the ultimate source of accessory growth substances for yeasts. *Jl inf. Dis.*, t. 32, février 1923, pp. 153-158.

ROBERTSON (R. C.). — Food accessory factors (vitamins) in bacterial growth. VIII. Relation of substances formed by *B. coli* to the growth of yeast. *J. inf. Dis.*, t. 34, avril 1924, pp. 395-399.

— Food accessory factors (vitamins) in bacterial growth. IX. Growth of several common bacteria in a synthetic medium and relation of substances formed by them to growth of yeast. *J. inf. Dis.* t. 35, septembre 1924, p. 311-314.

ROSENHEIM (O.) et WEBSTER (T. A.). — On the nature of the parent substance of vitamin D. *The Lancet*, 5 février 1927, p. 306.

— The photochemical production of vitamin D from ergosterol. *The Lancet*, 17 septembre 1927, p. 622.

ROSENTHAL. — Symbiose satellitique du strepto-bacille fusiforme. *C. R. Soc. de Biol.*, 1902, p. 322.

ROUX (E.). — Sur la culture des microbes anaérobies. *Annales Institut Pasteur*, t. I. 1887, p. 49.

RUBNER (Max). — *Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle bei der alkoholischen Gärung.* Leipzig, 1913.

- SAELHOF (Clarence C.). — Observations on chancroidal infection. *Journ. inf. Dis.*, t. 35, décembre 1924, p. 591.
- SAMMARTINO (U.). — Ueber Vitamine. *Biochem Zeitsch.*, t. 125, 1921, p. 25.
- SAZERAC (R.). — A propos de l'analyse d'une note de G. LINOSSIER. *Bulletin Institut Pasteur*, t. 17, 15 septembre 1919, p. 560.
- Culture du bacille tuberculeux sur milieu à base de levure autolysée. *C. R. Ac. Sc.*, t. 171, 26 juillet 1920, p. 278.
- SCHAEFFER (G.). — Facteurs accessoires de la croissance et de l'équilibre. Vitamines ; auximones. *Bull. Institut Pasteur*, t. 17, 15 janvier 1919, pp. 1-21 et 30 janvier 1919, pp. 41-57.
- SCHREIDER (von). — Ueber Mischculturen von Streptokokken und Diphtherienbacillen. *Centralbl. f. Bakt.*, t. 12, 1892, p. 291.
- SCHWARTZMAN (G.). — Food accessory substances in bacterial growth. I. The influence of initial hydrogen ion concentration of media on the growth promoting effect of tomato extract. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine*, t. 22, 1924-1925, pp. 7-9.
- Food accessory substances in bacterial growth. II. The variations of hydrogen ion concentration occurring in bacterial cultures containing tomato extract. *Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine*, t. 22, 1924-1925, pp. 42-44.
- SHEARER (C.). — The presence of an accessory food factor in the nasal secretion and its action on the growth of the Meningococcus and other pathogenic bacteria. *Lancet*, 1917, p. 59.
- The action of spinal fluid in stimulating the growth of the Meningococcus. *Lancet*, t. 2, 1917, p. 714.
- SOUZA (G. de) et Mc COLLUM (E. V.). — A study of the factors which interfere with the use of yeast as a test organism for the antineuritic substance. *J. biol. chem.*, t. 44, 1920, p. 113.
- SPRONCK (C. H. H.). — Préparation de la toxine diphtérique. Suppression de l'emploi de la viande. *Annales Institut Pasteur*, t. 12, 1898, pp. 701-704.
- STANDFUSS (R.) et KALLERT (E.). — *Centr. Bakt. Paras. Abt.* I, t. 85, 1920, p. 223.

- STEFANOPOULO (G. J.). — Culture du *Spirochaeta icterohemorrhagiae* en milieu vitaminé. *C. R. Soc Biol.*, t. 84, 7 mai 1921, p. 813.
- STOECKLIN (H. de). — Recherches cliniques et expérimentales sur le rôle des levures trouvées dans les angines suspectes de diphtérie. *Arch. de Méd. expér.*, t. 10, 1898, pp. 1-41.
- STOLZ (J.). — Les vitamines bactériologiques. *Casopis lékařu ceskych*, n° 45, 7 novembre 1925, pp. 1626-1627.
- TEMPÉ (G.). — *Les facteurs accessoires de la croissance dans la culture du gonocoque*. Thèse Médecine, Strasbourg. 1926.
- THJÖTTA (Th.) et AVERY (O. T.). — Growth accessory substances in the nutrition of bacteria. *Proceed. Soc. f. exper Biol. a. Med.*, t. 18, mars 1921, p. 197.
- THJÖTTA (Th.). — Studies on bacterial nutrition. I. Growth of *Bacillus influenzae* in hemoglobin-free media. *J. of experim. Med.*, t. 33, 1^{er} juin 1921, pp. 763-771.
- THJÖTTA (Th.) et AVERY (O. T.). — Studies on bacterial nutrition. II Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. *J. experim. Med.*, t. 34, 1^{er} juillet 1921, pp. 97-114.
- Studies on bacterial nutrition. III. Plant tissue, as a source of growth accessory substances, in the cultivation of *Bacillus influenzae*. *Journ. of exp. Medicine*, t. 34, novembre 1921, pp. 455-466.
- THJÖTTA (Th.). — On the nature of the heat-labile substance (V) required for the growth of the bacillus of Pfeiffer. *J. of exper. Med.*, t. 40, novembre 1924, pp. 670-678.
- THJÖTTA (Th.) et AVERY (O. T.). — Growth accessory substances in the nutrition of bacteria. *Proceedings of the Society for experimental biology and medicine*, t. 18, 1920-1921, pp. 197-199.
- TINTI (Mario). — Einfluss von Vitaminen auf das Wachstum einiger Bakterienarten. *Centralbl. f. Bakt. I Abt. Originale*, t. 90, 25 juillet 1923, pp. 401-407.
- TOCUNAGA (H.). — Die Biologie des Influenzabazillus. *Deutsche med. Wochenschr.*, t. 46, 1920, p. 1357.
- TRILLAT (A.). — Influence favorable exercée sur le développement de certaines cultures par l'association avec le *Proteus vulgaris*. *C. R. Ac. Sc.*, t. 154, 1912, pp. 1116-1118.

- TRILLAT (A.) et FOUASSIER. — Etudes des propriétés du distillat d'une culture de *B. proteus* sur la vitalité des microbes. *C. P. Ac. Sc.*, t. 154, 1912, pp. 1443-1445.
- TWORT (F. W.) et INGRAM (G. L. Y.). — A method for isolating and cultivating the *Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosis bovis*, Johne, and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudo-tuberculous enteritis of bovines. *Proc. Roy. Soc. B.*, t. 84, 1912.
- Some further researches on Johne's disease. *The veterinary Record*, n° 1262, 14 septembre 1912, pp. 141-143.
 - A monograph on Johne's disease (enteritis chronica pseudotuberculosis bovis), 1 vol., in-8°, VI + 178 p., 9 planches. Baillière, Tyn-dall et Cox, Londres.
- TWORT (F. W.) — A method for isolating and growing the lepra bacillus of man. Note préliminaire. *Proc. Roy. Soc., B.*, t. 83, 17 novembre 1910.
- UYEI NAO. — Food accessory substances (vitamins) and tubercle bacilli. I. Do tubercle bacilli contain or produce growth promoting substances ? The effect of the commonly known vitamins on the growth of tubercle bacilli. *Journ. inf. Dis.*, t. 40, mars 1927, pp. 425-433.
- VALAGUSSA. — Ricerche sulla aerobiosi del bacillo del Tetano. *Ann. d'Igiene speriment.*, t. 8, 1898, p. 396.
- VANSTEENBERGE (P.). — L'autolyse de la levure et l'influence de ses produits de protéolyse sur le développement de la levure et des microbes lactiques. *Annales Institut Pasteur*, t. 31, 1917, p. 601.
- VILLASROEL (M. J.). — La vitamine B comme activateur des ferments. *Soc. Biol. Buenos-Aires*, in *C. R. Soc. Biol.*, t. 88, 1923, p. 376.
- VINCENT (H.). — Infection strepto-typhique. *C. R. Soc. de Biol.*, t. 44, 1892, p. 597.
- Etude sur les résultats de l'association du Streptocoque et du *B. typhique* chez l'homme et chez les animaux. *Annales Institut Pasteur*, t. 7, 1893, p. 141.
- WEICHARDT (W.). — Die Aktivierung der Infektionserregern. *Jahreskurse f. ärztl. Fortbildung*, t. 13, f. 10, 1922, p. 1 (Cité d'après Knorr).
- *Ztschr. f. Hyg.*, t. 104.
 - *Wien. Klin. Woch.*, 1924, n° 29-30.
 - *Klin. Woch.*, Jahr. 3, n° 19.

- WEINBERG (M.) et AZNAR (P.). — Le Bacille pyocyanique et les microbes anaérobies. *C. R. Soc. Biol.*, t. 89, 1923, pp. 466-468.
- WILDIERS (E.). — Une nouvelle substance indispensable au développement de la levure. *La Cellule*, t. 18, 1901, pp. 313-329.
- WILLAMAN (J. J.). — *J. Ind. Eng. Chem.*, t. 10, 1918, p. 863 The function of vitamins in the metabolism of *Sclerotinia cinerea*. *J. amer. chem. Soc.*, t. 42, 1920, p. 549.
- WILLAMAN (J. J.) et OLSEN (A. G.). — The bios requirement of baker's yeast. *J. biol. chem.*, t. 55, 1923, pp. 815-836.
- WILLIAMS (R. J.) — The vitamine requirement of yeast. *J. biol. chem.*, t. 38, juillet 1919, p. 465.
- A quantitative method for determination of vitamine. *J. biol. chem.*, t. 42, 1920, p. 259.
- Vitamines and yeast growth. *J. biol. chem.*, t. 46, 1921, p. 113.
- WILLIAMS (Anna W.) et POVITZKI (Olga). — Growth of B. influenza without the presence of hemoglobin. *J. of med. Research*, t. 42, 1921, p. 405.
- WOLF (J. E.). — Beitrage zur Biologie des Pfeifferschen Influenzabacillus. *Centralb. f. Bakt*, t. 84, 1920, pp. 241-255.
- WOLLMAN (E.). — Sur le rôle des microorganismes dans la production des vitamines. *C. R. Soc. Biol.*, t. 85, 5 novembre 1921, p. 801.
- WOLLMAN (E.) et VAGLIANO (H.). — Sur le rôle des microorganismes dans la production des vitamines. Recherches sur la production de vitamines de croissance par le bacille bulgare et l'Amylomucor. *C. R. Soc. Biol.*, t. 86, 29 avril 1922, p. 832.
- WRIGHT (O. K.). — The action of yeast-growth stimulant. *Biochem. Journ.*, t. 16, 1922, p. 137.
- WYON (G. A.) et Mc LEOD (I. W.). — Preliminary note on inhibition of bacterial growth by amine-acids. *Journ. of hyg.*, t. 21, 1923, p. 376.
- WYON (G. A.). — Vitamine and bacterial growth. *Journal of pathology and bacteriology*, t. 24, 1923, pp. 441-445.

TABLE ALPHABÉTIQUE DES AUTEURS

Les chiffres en romain renvoient au texte.
Les chiffres en italique renvoient à l'Index bibliographique.

A

ABDERHALDEN (E.), 44, 149.
ABT (G.), 70.
AGULHON (H.), 62, 130, 134, 145, 149.
ALLEN, 149.
AMAND (A.), 32, 149.
ARSONVAL (d'), 47, 149.
ATLASSOFF (J.), 149.
AVERY (O. T.), 42, 49, 56, 57, 65, 66, 68, 73, 74, 130, 138, 149, 165.
AYERS (S. H.), 41, 42, 72, 149.
AZNAR, 167.

B

BABÈS (V.), 150.
BANCIU (A.), 72, 161.
BERNHEIM (M.), 150.
BERTRAND (G.), 41, 150.
BESREDKA (A.), 75, 76, 134, 146, 150.
BEZANÇON (F.), 71, 150.
BIELING (R.) 124, 150.
BIENSTOCK, 150.
BILLA, 150, 155.
BISHOP, 19.

BLAIZOT (L.), 134, 140, 150.
BLANC (F. C. J.), 120, 150.
BLOCH (W.), 150.
BOEZ (L.), 53, 150.
BORREL (A.), 53, 150.
BOTTOMLEY (W. B.), 21, 123, 150, 151.
BOYER, 78, 151.
BRAUN, 151.
BROADHURST, 58, 151.
BROWN, 151.
BUNKER, 79, 151.

C

CALKINS, 80, 151.
CALPADI, 75.
CANTANI (A.), 48, 151.
CESSNA, 125, 161.
CHAMBERS (M. H.), 44, 80, 151.
CHARRIN, 47, 149.
CLEGG (M. T.), 151.
COHN, 133, 134.
COLE (W. C.), 72, 73, 91, 151.
COLEBROOK (L.), 152.
COULON DE (A.), 53, 150.
COWARD (K. H.), 126, 156.
CURRIE (J. N.), 44, 152.

D

DAMON (S. R.), 124, 125, 152.
 DARRAH, 35, 152.
 DAVIS (D. J.), 18, 49, 50, 51,
 56, 58, 62, 67, 73, 79, 152,
 163.
 DEBRAND, 152.
 DELATER, 75.
 DERKS (T. J. G.), 125, 153.
 DEVLOO, 32, 152.
 DIÉNERT (F.) 42, 152.
 DOEPNER, 45.
 DORSET, 75.
 DOUGLAS, 139, 152.
 DRUMMOND (J. C.), 126, 156.
 DUBIN, 19, 115, 155.
 DUCLAUX (E.), 135, 152.
 DURAND (P.), 72, 152.
 DUVAL (C. W.), 153.

E

EBERSON, 41, 153.
 EDDY (W. H.), 36, 39, 80, 115,
 151, 153.
 EDWARDS, 53, 160.
 EIJKMAN (C. J. C.), 125, 126, 153.
 EMMET (A. D.), 115, 153.
 EPPINGER, 118.
 EVANS (H. M.), 19.

F

FADYEAN (M'), 53, 160.
 FERRY (E. L.), 79, 152.
 FILDES (P.), 57, 65, 69, 153.
 FINCK, 153.
 FLACK., 58, 153.
 FLATHER (M. D.), 59, 80, 154.
 FLEMING (W. F.), 152, 154.
 FOUASSIER, 166.
 FRAENKEL (S.), 39, 40, 154.

FRANKENTHAL (K.), 60, 156.
 FREEDMAN (L.), 38, 43, 77, 154,
 155.
 FRIEDBERGER (E.), 45.
 FUJITA., 79, 154.
 FULMER (E. I.), 35, 37, 125, 154,
 161.
 FUNK (C.), 17, 19, 38, 43, 54,
 59, 73, 77, 80, 115, 130, 154,
 155.

G

GATÉ (J.), 123, 155, 162.
 GEHLEN (W.), 51, 68, 69, 155,
 157.
 GHON (A.), 48, 155.
 GIBIER (P.), 155.
 GISCARD (J. B.), 133, 134, 136,
 142, 148, 155.
 GORDON (M. H.), 58, 134, 138,
 155.
 GOY (P.), 45, 117, 130, 134, 135,
 136, 155.
 GRASSBERGER (R.), 47, 50, 56,
 155.
 GRIFFON (V.), 71, 150.
 GUILLERT (A.), 42, 152.

H

HABABOU-SALA (J.), 76, 156,
 HAGER (J.), 40, 154.
 HAMMERSCHMIDT (J.), 156.
 HARDEN (A.), 35, 156,
 HEFT (H. L.), 36, 153.
 HELLER (V. G.), 35, 126, 156.
 HILBERT (P.), 156.
 HINE (T. G.), 58, 134, 138, 155.
 HJORT (J.), 126, 156.
 HOOGENHUIJZE (van), 125, 153.
 HOPKINS (F. G.), 21.

HUNTOON (F. M.), 79, 134, 147, 156.

HOSOYA (S.), 59, 156.

I

IDE, 33, 36, 156.

INGRAM (G. L. Y.), 52, 53, 166.

J

JAKOBI (M.), 69, 156.

JAMESON (H. L.), 126, 156.

JENKINS (C. E.), 73, 157.

JIMENEZ, 44, 74, 75, 157, 159.

JÖTTEN, 44, 157.

JUPILLE, 75, 150.

K

KALKBRENNER, 157.

KALLERT, 44, 164.

KERMORGANT (Y.), 157.

KERR (R. W.), 39, 153.

KLEIN, 157.

KLIGLER (I. J.), 42, 78, 113, 157.

KNORR (M.), 48, 51, 65, 66, 68, 157, 158.

KÖHLER (K.), 44, 149.

KOLLATH (W.), 48, 49, 52, 56, 57, 65, 66, 67, 69, 82, 116, 124, 134, 137, 138, 158.

KOREZYNSKI (L. R.), 158.

KRISTENSEN (M.), 51.

KUHNAU, 158.

KURONO, 158.

KUROYA (M.), 59, 156.

L

LAMPITT (L. H.) 33, 159.

LECOQ (R.), 123, 163.

LEGROUX (R.), 62, 63, 64, 70, 73, 74, 75, 78, 119, 127, 130, 134, 145, 149, 159.

LEICHTENTRITT (B.), 59, 82, 84, 85, 116, 124, 158, 159.

LE SOUDIER (M^{lle}), 76, 159.

LE SOURD (L.), 71, 150.

LEUSCHNER, 51.

LINOSSIER (G.), 45, 55, 159.

LLOYD (D. J.), 72, 73, 91, 151, 159.

LOCKEMAN, 53.

LUERSSEN (A.), 48, 159.

LUMIÈRE (A.), 23, 41, 114, 160.

M

MACKENZIE (R.), 58, 160.

MAC COLLUM (E. V.), 18, 35, 38, 125, 160, 164.

MAC DONALD (M. B.), 35, 38, 125, 126, 160.

MAC LEOD (J. W.), 34, 167.

MAC NEAL, 74.

MATTHEWS (J.), 160.

MAYER (A.), 45, 133, 134.

MAZÉ (P.), 23, 160.

MESNARD (J.), 63, 64, 78, 159.

METCHNIKOFF (E.), 160.

MEUNIER (H.), 160.

MILLER (E. W.), 39, 160.

MOCKERIDGE (F. A.), 22, 160.

MORELLO, 160.

MORGAN (A. F.), 57, 149.

MORINI, 41, 161.

MOSNY (E.), 161.

MUDGE (C. S.), 42, 72, 149.

MUELLER (J. H.), 76, 161.

MURRAY (T. J.), 43, 161.

MUSGRAVE, 161.

N

NEISSER (M.), 48, 50, 69, 161.

NELSON (V. E.), 35, 37, 125, 154, 161.

NEUBERG, 39.
NICOLAU (S.), 72, 161.
NICOLLE (Ch.), 74, 161.
NOBÉCOURT (P.), 41, 161.
NOGUCHI, 78, 161.
NOVY (F. G.), 74, 161.

O

OLSEN (O.), 37, 65, 68, 116, 161,
167.

P

PAPACOSTAS (G.), 123, 155, 162.
PASTEUR (L.), 11, 28 *et sq.*, 117,
118, 162.
PETERS, 80.
PFEIFFER (R.), 62, 67, 68, 134,
142, 162.
POOLE, 65.
PORTIER (P.), 162.
POVITZKI, 167.
PRÉYSZ, 48, 155.
PRINGSHEIM (H. H.), 34, 162.
PRIP, 162.
PROCA, 162.
PUTNAM (J.), 162.

R

RAMOND (A. F.), 70, 162.
RANDOIN (M^{me} L.), 20, 115, 116,
123, 162, 163.
RAULIN (J.), 40, 44, 45, 163.
REITH (A. F.), 163.
RENON, 163.
RIVERS, 51, 57, 65.
ROBERTSON (R. C.), 122, 163.
ROBERTSON (T. B.), 54, 163.
ROGERS (L.), 74.
ROSENHEIM (O.) 19, 163.
ROSENTHAL (G.), 163.

ROUX (E.), 163.
RUBNER (M.), 34, 163.
RUPP, 41, 149.

S

SACQUÉPÉE, 75.
SAELHOF (C.), 164.
SAMMARTINO (V.), 40, 164.
SAZERAC (R.), 42, 127, 164.
SCHAEFFER (G.), 164.
SCHARF (A.), 154.
SCHQEN, 36.
SCHWARTZ (E.), 39, 154.
SCHREIDER (Von), 164.
SCHWARTZMAN (G.), 59, 164.
SHEARER (C.), 77, 78, 164.
SHEATHER, 53, 160.
SHERWOOD (F. F.), 35, 154.
SIMONNET (H.), 20, 115, 116, 163.
SOMMERFELD (P.), 150.
SOUZA (G. de P.), 35, 164.
SPRONCK (C. H. H.), 41, 164.
STANDFLUSS, 44, 164.
STEFANOPOULO (G. J.), 73, 165.
STEVENSON (H. C.), 36, 153.
STOCKHOLM (M.), 115, 153.
STOECKLIN (H. DE), 165.
STOLZ (J.), 165.
SURE (B.), 19.

T

TAROZZI, 77.
TEMPÉ (G.), 46, 134, 137, 165.
THJÖTTA (Th.), 42, 49, 51, 56,
65, 66, 68, 73, 74, 81, 82, 130,
138, 165.
TINTI (M.), 67, 68, 165.
TOKUNAGA (H.), 68, 165.
TRILLAT (A.), 165.
TWORT (F. W.), 52, 53, 166.

U

UYEI (N.), 113, 166.

V

VACCARI, 160.

VAGLIANO (H.), 124, 167.

VALAGUSSA, 166.

VANSTEENBERGE (P.), 34, 166.

VERGE, 76, 159.

VILLASROEL (M.J.), 166.

VINCENT (H.), 166.

VRIES (H. DE), 127.

W

WEBSTER (T. A.), 19, 163.

WEICHARDT (W.), 49, 72, 166.

WEINBERG (M.), 167.

WERTHEIM, 97.

WHITE (G. F.), 37, 154.

WILDIERS (E.), 32, 130, 167.

WILLAMAN (J. J.), 37, 41, 44,
116, 167.

WILLIAMS (R. R.), 34, 36, 39,
113, 115, 153, 167.

WOLF (J. E.), 68, 167.

WOLLMAN (E.), 124, 167.

WRIGHT (S.), 37, 167.

WRZOZEK, 78.

WYON (C. A.), 34, 72, 116, 167.

Z

ZIELAKOWSKY, 59, 159.

ZILVA (S. S.), 35, 156.

ZWEIG, 84, 85, 159.

TABLE ALPHABÉTIQUE DES MICROBES

Les chiffres en romain renvoient au texte.
Les chiffres en italique renvoient à l'Index bibliographique.

A

abortus (*Brucella*) 59.
Actinomyces asteroides (Voir *No-
cardia asteroides*).
Amylomucor, 117, 124, 136, 167.
Anaérobies, 77, 78, 150, 152, 161,
162, 163, 166, 167.
Aspergillus fumigatus, 45.
Aspergillus niger, 40, 42, 44, 45,
55, 150.
Azotobacter chroococcum, 21, 22.

B

Bacilles lumineux, 45.
Bactéridie charbonneuse, 59.
Blastomycètes, 58.
Bordet (B. de). Voir *B. pertussis*.
bulgare (B.) 124, 167.

C

canis (B.), 51, 61, 67.
catarrhalis (*Micrococcus*), 50.
choléra des poules (B. du), 12.
colon (B. du). 42, 50, 58, 77,
79, 116, 122, 123, 124, 163.
Colpidium colpoda, 44, 80.
Crenothrix polyspora, 62.

D

Diatomées, 126, 156, 157.
diphthérique (B.), 41, 42, 46, 50,
58, 59, 78, 79, 84, 85, 106, 150,
151, 152, 153, 155, 158, 161,
162, 164.
Ducrey (B. de), 13, 51, 70, 71,
72, 76, 86 et *sq.*, 150, 152,
156, 161, 164.
dysentérique (B.), 42, 50, 59.

E

Enchelys farcimen, 54.
enteritidis (B.), 50.

F

faecalis alcaligenes (B.), 50.
Flexner (B. de), 59.
Friedberger (B. de) voir *B. canis*.
Friedländer (B. de) voir Pneu-
mobacille.

G

Gonocoque, 12, 41, 46, 50, 71,
72, 73, 76, 78, 79, 86, 97 et
sq., 136, 140, 144, 145, 150,
151, 155, 157, 159, 161, 165.

H

histolytique (B.), 46.

I

influenzae (B.). Voir B. de Pfeiffer.

Infusoires, 32, 163.

J

Johne (B. de), 52, 53, 76, 160, 166.

L

lactique (B.), 11, 31, 32, 34, 118.

Leishmania, 13, 74, 75, 159.

Levure, 11, 28 *et sq.*, 50, 55, 113, 115, 118, 123, 125, 133, 135, 149, 152, 154, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167.

M

Méningocoque, 12, 41, 50, 58, 72, 73, 76, 77, 78, 79, 145, 153, 155, 159, 164.

Morax (B. de), 51.

Mucor mucedo, 45, 46, 54, 117, 137, 155.

Mucor stolonifer, 45.

Mycoderma vini, 45, 55.

N

nitrifiantes (Bactéries), 22, 43, 160, 161.

Nitzschia closterium 126, 157.

Nocardia asteroides, 118 *et sq.*, 131.

O

Oidium lactis 45, 55, 159.

P

Paramaecium caudatum, 44, 59, 80, 151, 154.

Paramaecium aurelia, 80.

paratyphoïdique A (B.), 50.

paratyphoïdique B (B.), 50, 124.

Penicillium glaucum, 45, 55.

perfringens (B.), 46.

pertussis (B.) 12, 51, 67, 76, 78

Pfeiffer (B. de), 43, 47 *et sq.*, 61 *et sq.*, 78, 81, 82, 83, 106, 116, 138, 145, 149, 151, 152, 153, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 165, 167.

phléole (B. de la), 53.

Pneumobacille, 49, 50, 51, 116, 124.

Pneumocoque, 49, 57, 59, 71, 76, 77, 78, 145, 161.

prodigiosus (B.) 48, 50, 58.

pseudodiphthérique (B.), 50, 136.

pyocyanique (B.), 47, 50, 58, 59, 124, 149, 167.

R

radicicola (B.), 22.

S

Sarcina lutea, 50.

Sclerotinia cinerea, 41, 45, 167.

Spirillum metchnikowi, 50.

Spirochaeta icterohemorrhagiae, 73, 165.

sporogenes (B.), 46, 50.

Sporotrichum schenckii, 58.

Staphylocoque, 42, 47, 49, 56, 58, 161.

Streptocoque, 42, 43, 49, 58, 59, 76, 78, 79, 115, 145, 149, 151, 155, 156, 166.

Streptococcus viridans, 49, 59.

Streptothrix, 58.

Subtilis (B.), 124.

T

Treponema pallidum, 78, 161.

Trypanosome, 74.

tuberculeux aviaire (B.), 53.

tuberculeux bovin (B.), 43, 53.

tuberculeux humain (B.), 42, 46,

52, 53, 54, 71, 75, 76, 79, 113,

120, 150, 157, 158, 160, 166.

typhoïdique (B.), 12, 50, 58, 59,
77, 124, 149, 166.

V

Vibron cholérique, 59, 160, 163.

W

Weeks (B. de), 51, 61, 156, 157.

X

xylinum (B.), 41, 150.



TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	11
PREMIÈRE PARTIE	
FACTEURS DE CROISSANCE POUR LES ANIMAUX ET LES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS	15
CHAPITRE I. — Facteurs de croissance pour les animaux supé- rieurs. Vitamines	17
CHAPITRE II. — Facteurs de croissance pour les végétaux supé- rieurs. Auximones	21
DEUXIÈME PARTIE	
FACTEURS FAVORISANT LA CULTURE DES MICROBES.....	25
CHAPITRE I. — Facteurs de croissance d'origine microbienne....	28
I. Extraits de végétaux inférieurs.....	28
A. Extraits de levures.....	28
1° Leur action sur les levures.....	28
Pasteur et les suc de fruits	28
Le « bios » de Wildiers	32
La vitamine D de Funk	38
2° Leur action sur les champignons	40
3° Leur action sur les bactéries.....	41
Levure autolysée	42
4° Leur action sur les protozoaires.....	44
B. Extraits de champignons inférieurs.....	44
1° Leur action sur les champignons.....	44
Le liquide de Raulin.....	44
L'extrait de <i>Mucor</i> de Goy.....	45

2° Leur action sur les bactéries.....	46
II. Extraits de bactéries.....	47
1° Leur action sur les levures.....	47
2° Leur action sur les bactéries.....	47
« Colonies géantes » de Grassberger	47
« Colonies-nourrices » de Neisser.....	48
« Satellitisme » de Davis.....	49
« Milieux de famine » et « cannibalisme » de Kollath.....	52
3° Leur action sur les protozoaires.....	54
CHAPITRE II. — Facteurs de croissance d'origine végétale.....	55
1° Leur action sur les champignons inférieurs et les levures.....	55
2° Leur action sur les bactéries.....	56
A. Bacille de Pfeiffer et bactéries hémophiles..	56
B. Autres bactéries pathogènes.....	58
3° Leur action sur les protozoaires.....	59
Paramécies	59
CHAPITRE III. — Facteurs de croissance d'origine animale, extraits des tissus sains.....	61
I. Facteurs extraits du sang.....	61
1° Leur action sur les bactéries.....	61
A. Bacille de Pfeiffer.....	61
Les deux facteurs de croissance contenus dans le sang.....	62
Extrait globulaire de Legroux	62
Les bactéries hémophiles ne sont-elles que des bactéries sidérophiles ?.....	67
Milieux à la bile	70
B. Autres bactéries pathogènes.....	71
Ascite artificielle de Legroux faite avec du sérum.	73
2° Leur action sur les protozoaires.....	74
Trypanosomes.....	74
Leishmania	74
II. Facteurs extraits d'autres tissus que le sang.....	75
1° Leur action sur les bactéries	75
Facteurs de croissance dans l'œuf.....	75
Facteurs de croissance dans la caséine.....	76
Facteurs de croissance dans la sécrétion nasale....	77

Facteurs de croissance dans les différents organes ou tissus.....	77
Facteurs de croissance et acides aminés.....	79
2 ^o Leur action sur les protozoaires.....	80
Paramécies et Colpodes.....	80
CHAPITRE IV. — Facteurs de croissance d'origine animale, extraits du sang de malades ou d'humeurs pathologiques.....	
I. Facteurs de croissance pour les microbes dans le sang de sujets avitaminés.....	81
Avitaminose B.....	81
Avitaminose C.....	82
II. Facteurs de croissance pour les microbes dans le sang ou les humeurs de malades atteints de lésions organiques....	85
Techniques des expériences.....	86
1 ^o Facteurs de croissance dans des sangs pathologiques..	88
A. Sang de cardiaques.....	88
B. Sang de brightiques.....	91
C. Sang de diabétiques.....	93
D. Sang d'ictériques.....	95
2 ^o Facteurs de croissance dans des sérosités pathologiques.....	97
3 souches de gonocoques essayées sur 7 sérosités..	98
A. Ascite.....	98
B. Epanchement pleural.....	102
III. Résumé.....	106

TROISIÈME PARTIE

DES RAPPORTS ENTRE LES FACTEURS DE CROISSANCE POUR ANIMAUX (VITAMINES), POUR VÉGÉTAUX (AUXIMONES) ET POUR MICROBES.....	109
CHAPITRE I. — Action des vitamines pour animaux sur la culture des microbes en milieu artificiel.....	
I. Vitamine hydrosoluble B.....	113
1 ^{re} <i>opinion</i> . — La vitamine B favorise la culture des microbes.....	113
2 ^e <i>opinion</i> . — La vitamine B n'est pas un facteur de croissance pour les microbes et n'est pas identique à la vitamine D de Funk.....	114

II. Vitamine liposoluble A.....	118
Expériences montrant la possibilité de rendre, au moins en partie, grâce à cette vitamine, le caractère acido- résistant à une souche de <i>Nocardia asteroides</i>	118
CHAPITRE II. — Elaboration, par synthèse, par les microbes, des facteurs de croissance.....	122
1 ^o pour eux-mêmes	122
2 ^o pour les végétaux (auximones).....	123
3 ^o pour les animaux (vitamines).....	123
Exemples : A. Elaboration de la vitamine B par les microbes	123.
B. L'origine de la vitamine A contenue dans les huiles de poisson doit être recherchée dans des microbes, les diatomées, qui la fabriquent par syn- thèse	126
Résumé	126
CONCLUSIONS.....	129
APPENDICE. — Formules de quelques milieux de culture conte- nant des facteurs de croissance.....	133
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	149
TABLE ALPHABÉTIQUE DES AUTEURS.....	169
TABLE ALPHABÉTIQUE DES MICROBES.....	175

